

Humboldt-Universität zu Berlin

**ANPASSUNG VON TABAKPFLANZEN (*NICOTIANA TABACUM* L.)
AN LICHT- UND CHLOROPHYLLMANGEL**

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium

(Dr. rer. nat.)

im Fach Biologie

eingereicht an der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I

von

Dipl.-Biol. Yvonne Pörs, geb. Nicolai

geboren am 30. November 1966 in Naumburg/Saale

Präsident der Humboldt-Universität zu Berlin

Prof. Dr. Dr. h.c. H. Meyer

Dekan der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät I

Prof. Dr. J. Rabe

Gutachter: 1. Prof. Dr. Erwin Beck
2. Prof. Dr. Thomas Buckhout
3. Prof. Dr. Paul Hoffmann

Tag der mündlichen Prüfung: 02.06.1999

FÜR MEINE ELTERN
FÜR DIRK

Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis der verwendeten Symbole und Abkürzungen	1
Verzeichnis der Abbildungen	5
Verzeichnis der Tabellen	6
1 EINLEITUNG	7
2 MATERIAL UND METHODEN	13
2.1 Pflanzenmaterial und Anzucht	13
2.2 Methoden	14
2.2.1 Messungen und Probenahmen	14
2.2.2 Morphologische Untersuchungen	16
2.2.3 Frisch- und Trockenmassenbestimmung	17
2.2.4 Messungen von Parametern des CO ₂ - und H ₂ O-Gaswechsels	17
2.2.4.1 Berechnungen	18
2.2.4.2 Ermittlung der Blattflächen als Bezugsgröße	20
2.2.5 Bestimmung von Epidermiszell- und Stomatadichte sowie Stomataindex	20
2.2.6 Bestimmung der Adenylatgehalte (ATP, ADP, AMP)	21
2.2.7 Bestimmung der Pyridinnucleotidgehalte (NAD ⁺ , NADP ⁺ , NADH ⁺ H ⁺ , NADPH ⁺ H ⁺)	23
2.2.8 Bestimmung der Aktivität der NADP ⁺ -abhängigen MDH	26
2.2.9 Bestimmung des Chlorophyllgehaltes	27
2.2.10 Bestimmung des Gehaltes an löslichen Proteinen	29
2.2.11 Bestimmung des Kohlenstoff- und Stickstoffgehaltes	30
2.2.12 Bestimmung der Gehalte an Stärke und löslichen Zuckern	30
2.2.13 Lichtabsorption der Blätter	33
2.2.14 Licht- und elektronenmikroskopische Aufnahmen	34
2.2.15 Reagenzien und Chemikalien	35
2.2.16 Statistische Berechnungen	35
3 ERGEBNISSE	36
3.1 Chlorophyllgehalt	36
3.2 Morphologie und Anatomie sowie Wachstum und Entwicklung der Blätter und Pflanzen	37
3.2.1 Charakterisierung der Pflanzen	37
3.2.1.1 Phänotyp der Pflanzen	38
3.2.1.2 Wachstum und Entwicklung der Pflanzen	41
3.2.2 Charakterisierung der Blätter	45
3.2.2.1 Wachstum und Entwicklung der Blätter	47
3.2.2.2 Stomata- und Epidermiszellanzahl	50
3.2.2.3 Blatt-, Zell- und Chloroplastenstruktur	51

3.3 Lichtabsorption der Blätter	57
3.4 CO ₂ - und H ₂ O-Gaswechsel der Blätter	58
3.4.1 CO ₂ -Gaswechsel im Verlaufe der Ontogenese eines Blattes	58
3.4.2 CO ₂ - und H ₂ O-Gaswechsel in Abhängigkeit von Mess- und Anzucht- Lichtintensität	60
3.4.2.1 Lichtabhängigkeit von Parametern des CO ₂ - und H ₂ O-Gaswechsels	60
3.4.2.2 Abgeleitete Werte aus den Lichtabhängigkeitskurven der CO ₂ -Aufnahmeraten	65
3.4.2.3 Dunkelrespirationsraten	67
3.4.2.4 CO ₂ - und H ₂ O-Gaswechsel unter Anzucht-Lichtintensitäten	68
3.4.3 Photorespirationsraten	69
3.4.4 Relative stomatäre Limitierung des CO ₂ -Austausches	71
3.5 Energiestoffwechsel	72
3.5.1 Adenylate	73
3.5.2 Pyridinnucleotide	75
3.5.3 NADP ⁺ -abhängige MDH	78
3.6 Metaboliten des C- und N-Stoffwechsels	80
3.6.1 Stärke	80
3.6.2 Lösliche Zucker	82
3.6.3 Kohlenstoff und Stickstoff	84
3.6.4 Proteine	85
4 DISKUSSION	87
4.1 Von der Lichtenergie zum Wachstum	87
4.1.1 Zur Hierarchie der mit der Photosynthese verbundenen Prozesse	87
4.1.2 Physiologische und morphologische Veränderungen bei Tabakpflanzen infolge von Licht- bzw. Chlorophyll-Mangel	89
4.1.3 Schlussfolgerung	110
4.2 Die Rolle des Energiestoffwechsels	112
4.2.1 Zum Energie- und Reduktionsstatus	112
4.2.2 Energie- und Reduktionsstatus während der steady state-Photosynthese unter Licht- bzw. Chlorophyll-Mangel	114
4.2.3 Schlussfolgerung	123
4.3 Kompensations- und Regulationsmechanismen im pflanzlichen Stoffwechsel	124
5 ZUSAMMENFASSUNG	137
6. LITERATURVERZEICHNIS	139

VERZEICHNIS DER VERWENDETEN SYMBOLE UND ABKÜRZUNGEN

#	Linie der Transformation
#25	HÖ32-25
#42	HÖ32-42
#57	HÖ32-57
% R_{Ph}	Anteil, um den die Netto-CO ₂ -Aufnahmerate durch die Photorespiration verringert ist [%]
$\Delta S/Z$	relative über Nacht abgebaute Menge an Stärke bzw. Zucker
ΔTM	Differenz der TM zwischen Licht- und Dunkelproben
ϵ	Extinktionskoeffizient [cm ² µmol ⁻¹]
Φ_{app}	apparente Quantenausbeute der CO ₂ -Aufnahme [mol aufgenommenes CO ₂ (mol auftreffende Quanten) ⁻¹]
Φ_{reell}	reelle Quantenausbeute der CO ₂ -Aufnahme [mol aufgenommenes CO ₂ (mol absorbierte Quanten) ⁻¹]
ΣAr	Gesamtfläche aller Blätter einer Pflanze [cm ²]
A	<i>in vivo</i> -Aktivität
ADH	Alkoholdehydrogenase (Alkohol:NAD oxidoreductase; EC 1.1.1.1)
AdN	Adeninnucleotide, Adenylate (ATP, ADP, AMP)
ADP	Adenosin-5'-diphosphat
AGS	Amyloglucosidase (1,4- α -D-Glucan glucohydrolase; EC 3.2.1.3)
AK	Adenylatkinase (Myokinase; ATP:AMP Phosphotransferase; EC 2.7.4.3)
AMP	Adenosin-5'-monophosphat
Ar	<i>area</i> ; Blattfläche [cm ²]
ARC	<i>anabolic reduction charge</i> , Reduktionsladung des NADP(H ⁺ H) ⁺ -Paares
ATP	Adenosin-5'-triphosphat
Bl. v.o.	Blatt-Nummer, von der Pflanzenspitze aus gezählt
Bl. v.u.	Blatt-Nummer, von der Pflanzenbasis aus gezählt
c_a	CO ₂ -Konzentration der Luft [ppm]

CaMV	<i>cauliflower mosaic virus</i> , Blumenkohl-Mosaikvirus
CF₀-CF₁	chloroplastidäre ATPase, basaler und peripherer Teil der Kopplungsfaktoren
Chl	Chlorophyll
c_i	CO ₂ -Konzentration in den Interzellularräumen [ppm]
CRC	<i>catabolic reduction charge</i> , Reduktionsladung des NAD(H ⁺ H) ⁺ -Paares
DCPIP	2,6-Dichlorophenolindophenol
dest. H₂O	destilliertes Wasser
DMSO	Dimethylsulfoxid
DTT	1,4-Dithiothreitol (Cleland's Reagenz; Threo-1,4-dimercapto-2,3-butandiol)
EC	<i>energy charge</i> ; Energieladung
EDTA	[Ethyldinitrilo]tetraessigsäure
ET	Elektronentransport
ETK	Elektronentransportkette
ETR	Elektronentransportrate
FM	Frischmasse
Fru	Fructose
G6P	D-Glucose-6-Phosphat
G6PDH	Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (D-Glucose-6-phosphate:NADP 1-oxidoreductase; EC 1.1.1.49)
gCO₂	Blatt-Gesamtleitfähigkeit für CO ₂ [μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹]
gH₂O	Blatt-Gesamtleitfähigkeit für H ₂ O [mmol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹]
Glu	D-Glucose
GSA-AT	Glutamat-1-Semialdehyd-Aminotransferase ((S)-4-amino-5-oxopentanoat-4,5-Aminomutase; EC 5.4.3.8)
H	Pflanzen-, Sprossachsenhöhe [cm]
HEPES	N-[2-Hydroxyethyl]piperazin-N'-[2-ethanesulfonsäure]
HK	Hexokinase (ATP:D-hexose 6-phosphotransferase; EC 2.7.1.1)
HL	<i>high light</i> ; Starklicht (300 μmol Quanten m ⁻² s ⁻¹ ; 400 - 700 nm PPFD)
HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i> ; Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie

HSA	<i>human serum albumine</i> , Humanserumalbumin
J_{CO₂}	Netto-CO ₂ -Aufnahmerate [$\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$]
J_{H₂O}	Transpirationsrate [$\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$]
LHC	<i>light harvesting complex</i> ; Lichtsammelkomplex
LKP	Lichtkompensationspunkt der CO ₂ -Aufnahme [$\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{ s}^{-1}$]
LL	<i>low light</i> ; Schwachlicht ($30 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{ s}^{-1}$; 400 - 700 nm PPFD)
LSP	Lichtsättigungspunkt der CO ₂ -Aufnahme [$\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{ s}^{-1}$]
Luciferase	Photinus luciferin:oxygen 4-oxidoreductase (decarboxylierend, ATP-hydrolysierend; EC 1.13.12.7)
max.	maximal(e)
M_r	Molekulargewicht [g mol^{-1}]
Mu	Mutanten
n	Stichprobenumfang, Anzahl der Einzelwerte
NAD⁺	β -Nicotinamid-adenindinucleotid
NADH⁺H⁺	reduziertes β -Nicotinamid-adenindinucleotid
NADP⁺	β -Nicotinamid-adenindinucleotidphosphat
NADP⁺-MDH	NADP ⁺ -abhängige Malatdehydrogenase (L-Malat:NADP ⁺ -Oxidoreduktase; EC 1.1.1.82)
NADPH⁺H⁺	reduziertes β -Nicotinamid-adenindinucleotidphosphat
OAA	<i>oxalacetic acid</i> ; Oxalessigsäure
OS	Blattoberseite
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
Pefabloc[®]SC ..	4-(2-Aminoethyl)-benzolsulfonylfluorid - Hydrochlorid
PEP	Phosphoenolpyruvat
PK	Pyruvatkinase (ATP:Pyruvat 2-O-Phosphotransferase; EC 2.7.1.40)
PMS	Phenazinmethosulphat
PN	Pyridinnucleotide (NAD ⁺ , NADH ⁺ H ⁺ , NADP ⁺ , NADPH ⁺ H ⁺)
PPFD	photosynthetische Photonenflussdichte (400 - 700 nm) [$\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{ s}^{-1}$]
PP_i	anorganisches Pyrophosphat
PSI	Photosystem I

PSII	Photosystem II
r²	Quadrat des Korrelationskoeffizienten, Bestimmtheitsmaß
RC	<i>redox charge</i> , Redoxladung
R_D	Dunkelrespirationsrate [$\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$]
rel. H₂O	relativer Wassergehalt [%]
R_{Ph}	Photorespirationsrate [$\mu\text{mol freigesetztes CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$]
RSL	relative stomatäre Limitierung der CO ₂ -Assimilation [%]
RubisC/O	Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase/Oxygenase (3-Phospho-D-glycerat-carboxy-Lyase, dimerisierend; EC 4.1.1.39)
s	Standardabweichung (von n-1; für Stichprobe aus Gesamtheit)
Sac	Saccharose
SI	Stomataindex
SNN	Wildtyp von <i>Nicotiana tabacum</i> L. (nach dem Sortennamen Samsun N. N.)
spez. FM	spezifische Frischmasse [mg cm^{-2}]
spez. TM	spezifische Trockenmasse [mg cm^{-2}]
t	Pflanzen- bzw. Blattalter [d]
TEA·HCl	Triethanolamin-Hydrochlorid (2,2',2''-Nitrilotriethanol-Hydrochlorid)
TEM	Transmissions-Elektronenmikroskopie
TF	Transformanten, transgene Pflanzen (#57, #25, #42)
TM	Trockenmasse
Tris	2-Amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propandiol
Triton®X-100	t-Octylphenoxypolyethoxyethanol
US	Blattunterseite
VA	Vollaktivität
v. o.	von oben, Blatt-Nummer von der Spitze aus gezählt
vorl. Arbeit ...	vorliegende Arbeit
v. u.	von unten, Blatt-Nummer von der Basis aus gezählt
WT	Wildtyp
WUE	<i>water use efficiency</i> ; Wassernutzungskoeffizient [$\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$]
\bar{x}	Mittelwert, arithmetisches Mittel

VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN

Abb. Nr.		Seite
1	Emissionsspektrum der Anzuchtlampen	14
2	Messprinzip Adenylate	21
3	Messprinzip Pyridinnucleotide	25
4	Messprinzip NADP ⁺ -MDH	27
5	Messprinzip Stärke	32
6	Chlorophyllgehalt	36
7.1	Photos der HL-Pflanzen	39
7.2	Photos der LL-Pflanzen	40
8	Sprosslängen und Wachstumsraten in Abhängigkeit vom Pflanzenalter	42
9	Gesamtblattflächen und Zuwachsraten in Abhängigkeit vom Pflanzenalter	43
10	Blattanzahl und Blattbildungsraten in Abhängigkeit vom Pflanzenalter	44
11	Blattflächen ausgewachsener Blätter	46
12	Einzelblattflächen und Zuwachsraten in Abhängigkeit vom Blattalter	48
13	Stomataanzahl	51
14	Blattquerschnitte (Lichtmikroskopie)	53
15	Palisadenzellen (Lichtmikroskopie)	54
16.1	Chloroplasten der HL-Pflanzen (Elektronenmikroskopie)	55
16.2	Chloroplasten der LL-Pflanzen (Elektronenmikroskopie)	56
17	Absorption	58
18	Dunkelrespirations- und CO ₂ -Aufnahmeraten in Abhängigkeit von der Blattontogenese	59
19	Lichtsättigungskurven – CO ₂ -Aufnahmeraten	61
20	Lichtsättigungskurven – Blattleitwerte für Wasserdampf	62
21	Lichtsättigungskurven – innere CO ₂ -Konzentration	63
22	Lichtsättigungskurven – Kehrwert von WUE	64
23	Dunkelrespirationsraten	67
24	Gaswechselfparameter (J _{CO₂} , gH ₂ O, c _i , 1/WUE) unter Anzuchtlicht	69
25	Photorespirationsraten	70
26	Relative stomatäre Limitierung	72
27	Adenylat-Gehalte	74
28	Relativer Anteil der einzelnen AdN am Gesamtpool	75
29	Pyridinnucleotid-Gehalte	76
30	Relativer Anteil der einzelnen PN am Gesamtpool	77

31	Aktivität der NADP ⁺ -MDH	79
32	Stärkegehalte und TM in Licht- und Dunkelproben	81
33	Gehalte an Saccharose, Glucose, Fructose in Licht- und Dunkelproben	83
34	Gehalte an Kohlen- und Stickstoff	85
35	Proteingehalte	86
36	Schema der grundsätzlichen Prozesse von der Lichtabsorption zum Wachstum	88
37	<i>overflow</i> -Modell	126
38	Schema der Stressor-Auswirkung und Kompensationsmechanismen	134

VERZEICHNIS DER TABELLEN

Tab. Nr.		Seite
1	Angaben zu Messungen und Probenahmen	15
2	Mess-PPFD's für die Bestimmung der Photorespiration und der RSL	18
3	Wachstumsparameter zu Sprosslänge, Gesamtblattfläche und Blattanzahl	45
4	Wachstumsparameter zu Einzelblattfläche	47
5	spezifische Trocken- und Frischmassen, relativer Wassergehalt	49
6	Stomataindex	51
7	maximale CO ₂ -Aufnahmeraten, Lichtsättigungs- und Lichtkompensationspunkt	65
8	apparente und reelle Quantenausbeuten der CO ₂ -Aufnahme	66
9	Anteil der Photorespiration	71
10	ATP/ADP-Verhältnisse, EC	75
11	RC, ARC, CRC	77
12	PN-Verhältnisse	78
13	Aktivierungszustand der NADP ⁺ -MDH	79
14	Anteil von Kohlen- und Stickstoff an der Gesamt-Trockenmasse	85
15	Auswirkung von Lichtmangel auf verschiedene Parameter (Literatur- und eigene Daten)	90 f.
16	Auswirkung von Chl-Mangel auf verschiedene Parameter (Literatur- und eigene Daten)	92 f.
17	Relation von Parametern der Mangel- zu denen der Kontrollpflanzen	125

1 EINLEITUNG

Die Pflanze ist unter natürlichen Bedingungen vielen Schwankungen der Umweltfaktoren ausgesetzt, die ihr Wachstum und ihre Entwicklung entscheidend mitbestimmen. Diese werden, wenn sie zu stark vom Optimum der Wachstumsfaktoren abweichen und Stressreaktionen in der Pflanze auslösen, als Stressfaktoren bzw. Stressoren bezeichnet. BRUNOLD (1996) definierte den Begriff "Stress" folgendermaßen: "Aus belastenden Klimabedingungen, der Beschränktheit der Nährstoffe, der biologischen Konkurrenz und Schädigung sowie aus problematischen Eingriffen des Menschen ergeben sich also für Pflanzen vielfältige Beanspruchungszustände. Man verwendet dafür den Begriff Stress. Pflanzen können dann als gestresst betrachtet werden, wenn eine Belastungssituation zur Reduktion des Wachstums oder der Fortpflanzung führt." Dass der Begriff "Stress" nicht nur für extreme Bedingungen anwendbar ist, wird durch ein Zitat von LARCHER (1994) deutlich: "Stress ist daher kein Ausnahmezustand, sondern Bestandteil des Lebens." In diesem Zusammenhang wurden die Begriffe "Eustress" für Belastungssituationen, bei welcher die Toleranzgrenze nicht überschritten wird und dementsprechend keinerlei Schädigungen auftreten, und "Distress" für schädigende Belastungssituationen geprägt. Stressfaktoren können abiotischer (z. B. Lichtmangel und -überschuss, UV-Strahlung, hohe und niedrige Temperaturen, Wassermangel und Dürre, Überflutung, Nährstoffmangel und -überschuss, Luftschadstoffe) sowie biologischer Natur (z. B. Konkurrenz, Tierfraß, Insekten-, Pilz-, Bakterien- und Virusbefall) sein. Unter natürlichen Bedingungen wirken die einzelnen Stressoren meist nicht isoliert, sondern in Kombination. Auf die Einwirkung eines Stressfaktors reagiert die Pflanze mit entsprechenden Stressantworten. Die Reaktionen eines Organismus auf die verschiedensten Stressoren weisen Gemeinsamkeiten auf, die den Mediziner SELYE schon 1936 (SELYE, 1936) veranlassten, von einem "generellen Anpassungssyndrom" zu sprechen. Allgemein für Pflanzen gültige Stresskonzepte sind z. B. in den Arbeiten von LEVITT (1972), LARCHER (1987 und 1994), FOWDEN *et al.* (1993), SMIRNOFF (1995), SRIVASTAVA und STRASSER (1995), BRUNOLD (1996), HIPPELI und ELSTNER (1996) sowie LICHTENTHALER (1996) dargestellt bzw. zusammengefasst. Hier steht v. a. die zeitliche Abfolge der Stressreaktionen bei spontaner, kurzzeitiger Einwirkung eines Stressfaktors, d. h. die Phasen der Stressdynamik, im Mittelpunkt der Betrachtungen. Es wird davon ausgegangen, dass ein Stressor zunächst eine Destabilisierung in der Alarmphase, dann die Normalisierung in der Restitutionsphase und schließlich eine Resistenzsteigerung in der Härtungsphase bewirkt, und bei Überschreiten der Anpassungsfähigkeit und Überforderung der Reparaturmechanismen in der Erschöpfungsphase zum Absterben der ganzen Pflanze oder Teilen von ihr führt (LARCHER, 1987; BRUNOLD, 1996; LICHTENTHALER, 1996). Jedoch lässt sich laut BRUNOLD (1996) "der Gültigkeitsbereich dieses Stresskonzepts laufend überprüfen,

allenfalls modifizieren und weiterentwickeln.”

Wichtig bei der Betrachtung der verschiedenen Regel- und Kompensationsmechanismen, die der pflanzliche Organismus als Reaktion auf Stresseinflüsse ausbildet, ist die Tatsache, dass diese auf verschiedenen Hierarchieebenen des pflanzlichen Metabolismus ablaufen (HOFFMANN, 1987; POLEVOI, 1989). So sind bei höheren Pflanzen Regulationssysteme innerhalb und zwischen den Kompartimenten, auf zellulärer und interzellulärer Ebene sowie auf der Ebene des Organs und des Organismus zu unterscheiden.

Aufgrund seiner zentralen Stellung im pflanzlichen Stoffwechsel kommt dem Energiestoffwechsel, und hier insbesondere den Adenylaten und Pyridinnucleotiden, bei den regulatorischen Vorgängen, die als Reaktion der Pflanzen auf das Einwirken von Stressfaktoren ablaufen, eine wesentliche Rolle zu. Dieses beruht vor allem darauf, dass Adenylate und Pyridinnucleotide sowohl als Energie- und Wasserstoffüberträger als auch als regulatorische Substanzen fungieren sowie universell in der Zelle vorkommen und damit sowohl innerhalb der Hierarchieebenen als auch übergreifend wirken können (MELIS *et al.*, 1985; RAYMOND *et al.*, 1987; KITZMANN, 1996).

Unter der Vielzahl der **externen (Umwelt-) Bedingungen** spielt die **Lichtqualität und -quantität** eine Schlüsselrolle. Licht wirkt als Signal, welches verschiedenartige Prozesse auslöst oder ihre Geschwindigkeit reguliert sowie als Energiequelle. Es ist die Haupttriebkraft für die photosynthetischen Prozesse und somit unmittelbare Voraussetzung für sämtliche Vorgänge, die zu Pflanzenwachstum und -entwicklung, Produktivität und Ertrag führen. Abhängig von der Lichtverfügbarkeit während des Wachstums können Pflanzen innerhalb eines großen Bereiches reagieren. Einerseits existieren Anpassungsreaktionen an Stark- bzw. überschüssiges Licht, andererseits können die Pflanzen sich an Schwachlicht bzw. Lichtmangel anpassen. Die Fähigkeit der Pflanzen und Chloroplasten, sich an die unterschiedlichen Lichtbedingungen zu adaptieren, ist die zentrale Grundantwort beim Wachstum und der Differenzierung, welche mit spezifischen Änderungen in der Anatomie, Morphologie, Physiologie und Biochemie der Blätter und Chloroplasten verbunden ist. Im Zusammenhang mit der Langzeitadaptation der Pflanzen an die jeweiligen Lichtverhältnisse erfolgt eine Einteilung in Starklicht- und

Schwachlichtpflanzen bzw. in Sonnen- und Schattenpflanzen (BOARDMAN, 1977; LICHTENTHALER *et al.*, 1981; RÜHLE und WILD, 1985; MORALES *et al.*, 1991; HIKOSAKA und TERASHIMA, 1995; KAZDA *et al.*, 1998).

Neben den die Pflanze umgebenden Bedingungen spielt eine Anzahl von **endogenen Faktoren** für die zu pflanzlichem Wachstum und Entwicklung führenden Prozesse eine entscheidende Rolle. Unter anderen zählen hierzu die genetische Determination von Strukturen und Funktionen (FOSKET, 1994), der Ertragsbildung (HOFFMANN, 1987; CASEY, 1990) sowie der Ontogenese (ŠESTAK, 1981; TICHÁ, 1985; HOFFMANN, 1987; KUTIK, 1998), welche den Rahmen für Pools und Flüsse von Metaboliten und Substraten innerhalb und zwischen den Kompartimenten pflanzlicher Zellen (HOFFMANN, 1982; KACSER, 1987; HELDT, 1996) festlegt, sowie das Wirken von Phytohormonen für die Umsetzung der subzellulären Stoffwechselreaktionen in Wachstums- und Entwicklungsprozesse der gesamten Pflanze (POLEVOI, 1989; BECK, 1996; LEUNG und GIRAUDAT, 1998). Eine wesentliche Bedeutung innerhalb der endogenen Faktoren kommt den grünen Photosynthesepigmenten, den **Chlorophyllen a und b** zu. Chlorophyll-Protein-Komplexe sowie die Reaktionszentren in den Thylakoiden photoautotropher Pflanzen sind Funktionsstrukturen für die Lichtabsorption, den Energietransfer sowie die photochemische Verwertung der Strahlungsenergie und stellen somit eine Voraussetzung für den Ablauf der nachfolgenden photosynthetischen Prozesse dar. Die Biosynthese der Chlorophylle ist ein komplizierter, von vielen Faktoren abhängiger Prozess. Sie beginnt in den Chloroplasten mit der Bildung von δ -Aminolevulinat, dem sogenannten C₅-Weg, in welchen die 3 Enzyme Glutamyl-tRNA-Synthetase, Glutamyl-tRNA-Reduktase und GSA-AT integriert sind. Aus δ -Aminolevulinat wird in mehreren Schritten über verschiedene Tetrapyrrolformen Protochlorophyllid und Chlorophyllid synthetisiert, aus welchen letztendlich Chlorophyll a und b gebildet werden (GRIMM, 1992; TRAINOTTI *et al.*, 1993; AVERINA *et al.*, 1994; VON WETTSTEIN *et al.*, 1995). In den Pflanzen von *Nicotiana tabacum* L., die in dieser Arbeit zum Einsatz kommen, wurde die cDNA-Sequenz, welche das Enzym GSA-AT codiert, in *antisense*-Richtung mit Hilfe eines CaMV S35-Promotors exprimiert. Die Prozedur wurde ausführlich in HÖFGEN *et al.* (1994) beschrieben. Dieses hatte zur Folge, dass eine geringere Menge an GSA-AT-Protein synthetisiert wurde und so eine verminderte Gesamt-Aktivität der GSA-AT bewirkte, die letztendlich zu einer eingeschränkten Chlorophyllbiosynthese führte (HÖFGEN *et al.*, 1994). Bisherige Untersuchungen der Pflanzen, vor allem auf molekularbiologischem und photochemischem bzw. -physikalischem Gebiet, sind in den Publikationen von HÖFGEN *et al.* (1994), PÖRS *et al.* (1996), HÄRTEL *et al.* (1997), HÄRTEL und GRIMM (1998) und MATORIN *et al.* (1997 und 1999) dargestellt.

Die Akklimation an Licht, d. h. die Anpassung an die während der Anzucht vorherrschenden Lichtbedingungen, basiert auf der morphologischen und physiologischen Plastizität der Pflanzen und kann auf den unterschiedlichen hierarchischen Niveaus untersucht werden (BOARDMAN, 1977; BJÖRKMAN, 1981). Ebenso werden Adaptationsmechanismen auf verschiedenen Hierarchiestufen durch Veränderungen in der Fähigkeit zur Lichtabsorption und -verwertung infolge einer variierten Chlorophyllsynthese, die entweder zu einem verminderten Chl-Gesamtgehalt (s. o.) oder zu einem völligen Ausfall von Chlorophyll b führen kann (Lit. bei FALBEL und STAEHELIN, 1996; FALBEL *et al.*, 1996) sowie infolge von Modifikationen von Proteinen und Lipiden der Thylakoidmembran (z. B. DÖRMANN *et al.*, 1995; BRÜGGEMANN und WOLTER, 1995) hervorgerufen. Intensiv wurde und wird die Frage nach den Auswirkungen von veränderten Lichtbedingungen und/oder einer veränderten Struktur des Photosyntheseapparates auf die Primärprozesse in den Thylakoiden untersucht (SIEFERMANN-HARMS, 1985 und 1990; WILD, 1988; MATHIS und BURKEY, 1989; ADAMS *et al.*, 1990; ADAMSON *et al.*, 1991; ŠIFFEL *et al.*, 1993; SCHMID und SCHÄFER, 1994; ANDERSON *et al.*, 1995; FALBEL *et al.*, 1996; FETENE *et al.*, 1997). Sehr häufig steht ebenso der Zusammenhang zwischen hohen Lichtintensitäten und entsprechenden Schutzmechanismen im Mittelpunkt der Betrachtungen (KRAUSE, 1988; DEMMIG-ADAMS, 1990; DEMMIG-ADAMS und ADAMS, 1992 und 1993; BASSI *et al.*, 1993; FALBEL *et al.*, 1994; SCHÄFER *et al.*, 1994; SCHINDLER *et al.*, 1994). Desweiteren existiert eine Vielzahl von Arbeiten zum Einfluss von Faktoren wie Lichtquantität (und -qualität) sowie veränderte Lichtabsorptionseigenschaften auf die Dunkelreaktionen der Photosynthese, speziell die CO₂-Assimilation und die RubisC/O-Aktivität (OSTARECK, 1990a; MORALES *et al.*, 1991; GLOSER und GLOSER, 1996; HIKOSAKA und TERASHIMA, 1995; LIANG *et al.*, 1995; LUQUEZ *et al.*, 1997; NIINEMETS und TENHUNEN, 1997).

Sehr selten wird aber aufgrund der Komplexität dieser Fragestellung die gesamte Pflanze betrachtet und Regulationszusammenhänge, Korrelationen und Kausalitäten innerhalb und zwischen den einzelnen, parallel ablaufenden bzw. nachfolgenden Prozessen analysiert. Der Ansatz der vorliegenden Arbeit basiert auf der Applikation von Lichtmangel während der Anzucht (externer Stressor) sowie einer experimentell eingeschränkten Chlorophyll-Biosynthese (interner Stressor) in Pflanzen von *Nicotiana tabacum* L. und der Untersuchung der Auswirkung dieser auf Prozesse in verschiedenen Hierarchieebenen. Während in der Mehrzahl der Stresskonzepte v. a. Dissipations- und Schutzmechanismen, z. B. unter exzessivem Licht, im Mittelpunkt der Betrachtungen stehen, führen die hier untersuchten Stressfaktoren nicht zu einem Energieüberschuss und damit nicht zur Auslösung bzw. Verstärkung von Dissipationsvorgängen. Studien zur Wirkung solcher zu Energiemangel führenden Stressoren sind in der

Literatur selten zu finden. So wurde beispielsweise in der ausführlichen Zusammenfassung über Vegetationsstress bei Pflanzen von LICHTENTHALER (1996) Lichtmangel gar nicht in der Liste der natürlichen Stressfaktoren aufgeführt.

Vor allem die dynamische Akklimation der photosynthetischen Prozesse in Reaktion auf die Umweltfaktoren spielt eine zentrale Rolle bei der Ausprägung einer bestimmten Toleranz der Pflanzen gegenüber Stress und hält eine optimale photosynthetische Effizienz und Ressourcennutzung aufrecht. Somit sollen auch in dieser Arbeit v. a. die Prozesse, die die photosynthetische Leistung des pflanzlichen Gewebes charakterisieren, sowie die, die indirekt mit den Prozessen von der Lichtabsorption zum Wachstum verbunden sind, betrachtet werden. Bei der Auswahl der zu untersuchenden Prozesse und Parameter standen v. a. die Regulations- und Kompensationsmöglichkeiten, die zur Aufrechterhaltung der normalen Lebens- und Entwicklungsfunktionen führen, im Mittelpunkt der Betrachtungen. Somit erfolgten Messungen zur Lichtabsorption der Blätter, die Ermittlung von Parametern des CO₂- und H₂O-Gaswechsels, die Bestimmung von Stärke- und Zucker-, Stickstoff- und Kohlenstoffgehalten sowie von Proteinmengen, und es wurden morphometrische Daten zur Charakterisierung der Blätter und gesamten Pflanzen erhoben. Desweiteren wurden als Charakteristika des Energiestoffwechsels die Menge an Adenylaten und Pyridinnucleotiden sowie die Aktivität der NADP⁺-Malatdehydrogenase ermittelt. Untersuchungen der Struktur des Blattgewebes sowie der Chloroplasten runden die Ergebnisse zur Bewertung der biochemischen und physiologischen Parameter ab.

Ziel der vorliegenden Arbeit war somit die Klärung folgender Fragen:

- ① Welche Konsequenzen hat ein reduziertes Anzuchtlichtangebot sowie eine limitierte Chlorophyllbiosynthese für wichtige photosynthetische und mit der Photosynthese verbundene Prozesse? Wie wird dadurch Wachstum und Entwicklung beeinflusst? Welche Veränderungen können in Beziehung zu physiologischen Änderungen in der Blatt- und Chloroplastenstruktur beobachtet werden?
- ② Welche regulativen Funktionen kommen bei diesen Veränderungen dem Energiestoffwechsel zu?
- ③ Erfolgt die Veränderung der in dieser Arbeit untersuchten Parameter und Prozesse unterschiedlicher Komplexität nach einem einheitlichen Grundprinzip und welche Mechanismen könnten der Realisierung desselben zugrunde liegen?

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 PFLANZENMATERIAL UND ANZUCHT

Zur Untersuchung in vorliegender Arbeit dienten Wildtyppflanzen (WT) und Transformanten (TF) von Tabak (*Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun N. N.). Die WT-Pflanzen trugen die nach dem Sortennamen gewählte Bezeichnung SNN.

In die Tabakpflanzen wurde in der Arbeitsgruppe Chlorophyllbiosynthese (unter Leitung von Dr. B. Grimm) des Instituts für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung Gatersleben eine invers orientierte GSA-AT cDNA-Sequenz mittels eines CaMV 35S-Promotors eingeführt. Diese Prozedur sowie die nachfolgende Regeneration der transgenen Pflanzen wurde detailliert bei HÖFGEN *et al.* (1994) beschrieben. Für vorliegende Untersuchung wurden 3 Transformationslinien gewählt: HÖ32-57, HÖ32-25 und HÖ32-42 (kurz: #57, #25 und #42).

Für die Anzucht kamen entweder Primär-TF oder Sämlinge zur Anwendung. Die Primär-TF wurden in der o. g. Arbeitsgruppe vermehrt und bis zur Ausbildung von tragfähigen Wurzeln ca. 10 - 14 d in sterilen Anzuchtgläsern auf Hygromycin-Medium (s. HÖFGEN *et al.*, 1994) unter 30 - 40 $\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD angezogen. Für den Erhalt von Sämlingen wurde von Primär-TF gewonnener Samen in eine abgedeckte Schale (gegen Wasserverlust) mit Erde ausgesät und bei ca. 170 $\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD ca. 3 - 4 Wochen angezogen. Die Kultur der Pflanzen erfolgte in Einheitserde (Topfkultursubstrat, Fa. Vehnemoor, pH 5.0 - 6.0). Die Primär-TF bzw. Sämlinge wurden einzeln in kleine Töpfe (0.25 l) pikiert und ohne Abdeckung in die vorgesehene Anzucht-Lichtintensität gestellt. Dieser Zeitpunkt galt als Tag 0 für die Bestimmung des Pflanzenalters. Nach ca. 14 - 21 d erfolgte ein Umtopfen der Pflanzen in 2 l-Töpfe mit frischer Erde. Gegossen wurde einmal täglich mit Leitungswasser, ab der 3. Woche nach Umsetzen in 2 l-Töpfe wurde im Abstand von 7 d mit Knop'scher Nährlösung (s. OSTARECK, 1990b) gedüngt.

Die Pflanzen wuchsen in einem Anzuchtraum in einem 12 h Licht-/12 h Dunkel-Zyklus bei 25 °C/20 °C und ca. 65 % Luftfeuchte unter Starklicht (*high light*, HL; $300 \pm 21 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD) bzw. Schwachlicht (*low light*, LL; $30 \pm 3 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD). Die Lichtintensität wurde in Höhe der untersuchten Blätter mit Hilfe des Lichtmessgerätes LI-189 mit Quantumsensor (Fa. LI-COR) ermittelt. Die Beleuchtung erfolgte mit Hochdruck-Natriumdampf-Lampen (SON-T AGRO 400, Fa. Philips) mit dem in Abb. 1 dargestellten Emissionsspektrum. Dieses wurde mittels eines tragbaren Spektralradiometers (LI-1800 mit integrierender Kugel LI-1800-12; Fa. LI-COR, Lincoln) aufgenommen.

Durch entsprechend große Abstände zwischen den Töpfen konnte eine gegenseitige Beschattung der Pflanzen weitgehend vermieden werden.

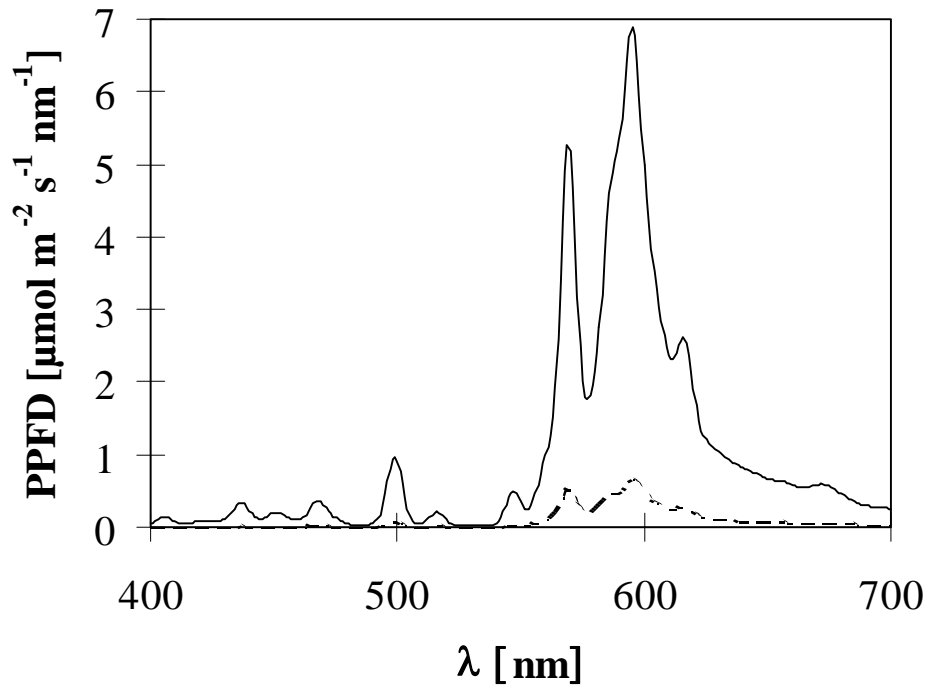


Abb. 1 Menge an emittierten Quanten ($\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ nm}^{-1}$) pro Wellenlänge (λ , nm) in dem Bereich von 400 bis 700 nm durch die Hochdruck-Natriumdampf-Lampen der HL- (—) und der LL-Anzuchtfläche (---)

2.2 METHODEN

2.2.1 MESSUNGEN UND PROBENAHMEN

Die Messungen und Probenahmen für die einzelnen Untersuchungen erfolgten wie in Tab. 1 beschrieben. Die Wahl des jeweiligen Blatt- bzw. Pflanzenalters basierte auf morphometrischen Messungen (Kap. 3.2.2) sowie CO₂-Gaswechsel-Untersuchungen (Kap. 3.4.1).

Tab. 1 Angaben zu Messungen und Probenahmen für die einzelnen Methoden. Aufgeführt sind jeweils das relative ontogenetische Blatt- (mit der jeweiligen Blatt-Nr. von oben gezählt = Bl. v.o.) und das Pflanzenalter (mit der Gesamtblattzahl) zum Zeitpunkt der Messung bzw. Probenahme, die Tageszeit der Messung bzw. Probenahme in Relation zum Lichtregime, die Art und Lagerung der Proben sowie die Dauer der Messung bzw. Probenahme bis zur Fixierung.

Methode (Kap.)	Blatt-Nr. (ontogenet. Alter)	Pflanzenalter (Blattanzahl, gesamt)	Messung o. Probenahme nach:	Probenart/ Lagerung	Dauer der Messung o. Probenahme
Morphologie (2.2.2)	alle Blätter (ab 2 mm Länge bis voll ausge- wachsenes Bl.)	0 - ca. 15 Wochen (mind. 3 - max. 60)	2 - 8 h Licht	gesamte Pflanze (im Topf; im Anzuchtraum)/ Sofortmessung	max. 30 min je Pflanze
TM, FM (2.2.3)	9. - 12. Bl. v.o. (gerade aus- wachsendes Bl.)	6 - 9 Wochen (22 - 26)	5 - 7 h Licht	Blattscheiben/ Sofortaufarbeitung	< 5 min
CO ₂ -/H ₂ O- Gaswechsel (2.2.4)	8. - 12. Bl. v.o. (gerade aus- wachsendes Bl.)	6 - 9 Wochen (22 - 26)	2 - 12 h Licht	gesamtes Blatt (an Pflanze belassen)/ Sofortmessung	ca. 2 - 3 h
Stomata- und Epidermis- zelldichte (2.2.5)	8. - 12. Bl. v.o. (gerade aus- wachsendes Bl.)	6 - 9 Wochen (22 - 26)	4 h Licht	Abdruck von Blattfläche/ Abdruck auf Objektträger	< 5 min
AdN (2.2.6)	9. - 12. Bl. v.o. (gerade aus- wachsendes Bl.)	6 - 9 Wochen (22 - 26)	4 h Licht	Blattscheiben/ in flüss. N ₂	10 - 12 sec
PN (2.2.7)	9. - 12. Bl. v.o. (gerade aus- wachsendes Bl.)	6 - 9 Wochen (22 - 26)	4 h Licht	Blattscheiben/ in flüss. N ₂	15 - 20 sec
NADP ⁺ -MDH (2.2.8)	9. - 12. Bl. v.o. (gerade aus- wachsendes Bl.)	6 - 9 Wochen (22 - 26)	4 h Licht	Blattscheiben/ in flüss. N ₂	15 - 20 sec
Chlorophyll (2.2.9)	9. - 12. Bl. v.o. (gerade aus- wachsendes Bl.)	6 - 9 Wochen (22 - 26)	4 h Licht	Blattscheiben/ in flüss. N ₂ bzw. Sofortaufarbeitung	15 - 20 sec
Proteine (2.2.10)	9. - 12. Bl. v.o. (gerade aus- wachsendes Bl.)	6 - 9 Wochen (22 - 26)	4 h Licht	Blattscheiben/ in flüss. N ₂	15 - 20 sec
C und N (2.2.11)	9. - 12. Bl. v.o. (gerade aus- wachsendes Bl.)	6 - 9 Wochen (22 - 26)	4 h Licht	Blattscheiben/ als Trockensubstanz	20 - 30 sec
Stärke und Zucker (2.2.12)	9. - 12. Bl. v.o. (gerade aus- wachsendes Bl.)	6 - 9 Wochen (22 - 26)	je 0.5 h vor Ende der Licht- bzw. Dunkelphase	Blattscheiben/ in flüss. N ₂	20 - 30 sec
Absorption (2.2.13)	9. - 12. Bl. v.o. (gerade aus- wachsendes Bl.)	6 - 9 Wochen (22 - 26)	4 - 8 h Licht	gesamtes Blatt (frisch von Pflanze abge- trennt)/Sofortmessung	5 - 10 min
Elektronen- mikroskopie (2.2.14)	9. Bl. v.o. (gerade aus- wachsendes Bl.)	6 - 9 Wochen (22 - 26)	12 h Dunkel	Frischprobe/ Sofortaufarbeitung	< 5 min

2.2.2 MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN

Für die Ermittlung von Wachstumsraten und Entwicklungszustand der Blätter und Pflanzen wurden ab dem Zeitpunkt des Pikierens der Pflanzen in kleine Töpfe aller 3 bis 4 d Sprosslänge, Blattanzahl sowie Länge (l) und Breite (b) der einzelnen Blätter ermittelt. Die Blattfläche errechnete sich aus:

$$[1] \quad Ar = l \cdot b \cdot 0,739 \quad [\text{cm}^2].$$

Der Faktor 0.739 in Gleichung [1] wurde für die Tabakpflanzen der SNN und der TF mit einer Standardabweichung (s) von 3 % für je 20 Blätter verschiedener Pflanzen und unterschiedlichen Alters aus 2 unabhängigen Versuchsreihen bestimmt. Dafür wurden die ermittelten Längen und Breiten mit den nach der in Kap. 2.2.4.2 beschriebenen Methode bestimmten Blattflächen in Beziehung gesetzt.

Die Ergebnisse zur Sprosslänge (H), zur Fläche einzelner Blätter (Ar), zur gesamten Fläche aller an einer Pflanze gebildeten Blätter (ΣAr) sowie zur Blattanzahl (n) in Abhängigkeit vom Pflanzen- bzw. Blattalter (t, in d) wurden mit Hilfe folgender in Anlehnung an LANDSBERG (1977) modifizierten Gleichung (Wachstumskurven) mit den spezifischen Parametern a, b und c beschrieben:

$$[2] \quad y = f(t) = \frac{a}{(1 + \exp^{(b \cdot (t-c))})}$$

y steht für die jeweiligen Biomasse-Parameter (H, Ar, ΣAr , n) zum Zeitpunkt t. Der Parameter a bezeichnet den maximalen Wert der Sprosslänge, der Fläche eines oder aller Blätter bzw. der Blattanzahl nach Abschluss des Wachstums, der Parameter c den Zeitpunkt der Ontogenese (in d), an welchem die Wachstumsrate (s. [3]) maximal ist ($(dy/dt)_{\max}$). Die Wachstumsraten können mathematisch mittels der 1. Ableitung der Wachstumsfunktion [2] dargestellt werden (LANDSBERG, 1977; MOHR und SCHOPFER, 1992), d. h.:

$$[3] \quad f'(t) = dy/dt = - \frac{(a \cdot \exp^{(b \cdot (t-c))} \cdot b)}{(1 + \exp^{(b \cdot (t-c))})^2}$$

Die maximale Wachstumsrate ($(dy/dt)_{\max}$) ergibt sich daher aus der Berechnung von [3] für $t = c$:

$$[4] \quad (dy/dt)_{\max} = - \frac{a \cdot b}{4}$$

2.2.3 FRISCH- UND TROCKENMASSENBESTIMMUNG

Nach Bestimmung der Frischmasse mit einer Feinwaage MC 210P (Fa. Sartorius) wurde das Pflanzenmaterial in Bechergläsern im Trockenschrank (MLW WS30) bei 105 °C getrocknet. Die Ermittlung der Trockenmasse erfolgte nach Erreichen der Gewichtskonstanz nach 3 - 4 d.

2.2.4 MESSUNGEN VON PARAMETERN DES CO₂- UND H₂O-GASWECHSELS

Für die Messung von CO₂- und H₂O-Gaswechsel-Parametern wurden Blätter, wie in Tab. 1 aufgeführt, ausgewählt, welche an der gut bewässerte Pflanze belassen und von der Blattspitze her in die Messküvette eingespannt wurden.

Die Messung der **CO₂- und H₂O-Austauschraten** erfolgte in einem offenen System (Kompakt-Miniküvetten-System, Fa. Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Deutschland) per Differenzmessung mittels eines Infrarot-Gasanalysators (BINOS 100, Fa. Rosemount GmbH & Co., Hanau, Deutschland). Die Temperatur in der Blattküvette mit angeflanschem Klimaaggregat (GK 022) war auf 22 °C eingestellt, die Taupunkt-Temperatur des Luftstroms in der Blatkammer lag bei 17 °C. Die Blatt-Temperatur betrug 23.2 ± 0.3 °C, die relative Luftfeuchte 85 ± 6 %. Die Bestrahlung erfolgte über eine Faseroptik von einer Kaltlichtquelle (FL-400, Fa. Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Deutschland). Die Flussrate des Luftstromes durch die Blattküvette betrug 1000 ml min^{-1} (Bestimmung der lichtabhängigen CO₂-Austauschrate) bzw. 1400 ml min^{-1} (Bestimmung der Photorespirationsrate und der RSL). Das entsprach, bezogen auf die gewählten Blattflächen, einer Luft-Durchflussrate von $ca. 20 \pm 0.5 \text{ l cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$.

Die **lichtabhängigen CO₂-Aufnahmeraten (Lichtsättigungs-, Lichtabhängigkeitskurven)** wurden bei 6 PPFD's ($30 - 1800 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, ansteigend) aufgenommen. Die Zeit bis zum Erreichen des stationären Zustandes von Transpirations- und CO₂-Aufnahmeraten betrug ca. 30 (LL) bis 60 (HL) min. Vor jeder Lichtabhängigkeitskurve wurde die Dunkelrespirationsrate (R_D) nach vorheriger Dunkeladaptation von ca. 30 min bestimmt. Dabei betrug die äußere CO₂-Konzentration (c_a) 350 ± 5 ppm (Messung mit natürlicher Umgebungsluft).

Die Bestimmung der **Photorespirationsraten** (R_{ph}) bzw. des durch die Photorespiration reduzierten Anteiles der Netto-CO₂-Austauschrate ($\% R_{ph}$) erfolgte jeweils bei Anzucht- und sättigenden Lichtintensitäten. Letztere wurden bei der Aufnahme der Lichtsättigungskurven ermittelt (Tab. 2; s. auch Kap. 3.4.2.2). Die äußere CO₂-Konzentration (c_a) wurde mittels einer Gasmischanlage (GMA, Fa. Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Deutschland) auf 340 ppm reguliert. Durch Zumischen von N₂ wurde die O₂-Konzentration der Außenluft von 21 % auf 2 % gesenkt. Auch hier wurde R_D vor jeder Messung von jedem Blatt nach vorheriger 30minütiger Dunkelinkubation ermittelt. Der *steady state*-Zustand war auch nach ca. 30 - 60 min erreicht.

Für die Ermittlung der **relativen stomatären Limitierung** (RSL) wurde bei sättigender PPFD (Tab. 2) zuerst die CO₂-Aufnahmerate bei einer c_a von 340 ppm CO₂ bestimmt. Danach wurde die CO₂-Aufnahmerate bei angenommener fehlender Limitierung durch die Stomata ermittelt, d. h. in diesem Falle wäre die CO₂-Konzentration in den Mesophyll-Interzellularen c_i gleich derer der Umgebungsluft c_a. Dementsprechend wurde c_a mittels Gasmischanlage soweit erhöht, bis c_i den Wert von 340 ppm CO₂ annahm.

Tab. 2 Bei der Bestimmung des Anteiles der Photorespiration sowie der RSL verwendete PPFD's (in $\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) im lichtgesättigten Bereich der Photosynthese in Anlehnung an die ermittelten Lichtsättigungspunkte (Tab. 7, Kap. 3.4.2.2) für Blätter von unter HL und LL angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42.

	SNN	#57	#25	#42
HL	1050	820	450	450
LL	370	290	230	90

2.2.4.1 Berechnungen

Die Berechnung der CO₂-Gaswechselfparameter **J_{CO₂}**, **J_{H₂O}**, **g_{H₂O}** und **c_i** erfolgte mittels DIAGAS-Programm (Version 2.16, Fa. Heinz Walz GmbH) nach VON CAEMMERER und FARQUHAR (1981).

Die Lichtsättigungskurven der CO₂-Aufnahmeraten sind mathematisch nach SCHULTE (1993) durch eine Exponentialfunktion beschrieben. Die Gleichung hat die Form

$$[5] \quad J_{\text{CO}_2} = f(\text{PPFD}) = A - e^{B \cdot (-\text{PPFD})} \cdot C \quad [\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}]$$

mit den spezifischen Konstanten A, B und C.

Daraus lassen sich folgende Parameter mittels der aufgeführten Gleichungen [6] bis [9] ableiten:

Die **maximale CO₂-Aufnahmerate** (max. J_{CO₂}) entspricht

$$[6] \quad \text{max. } J_{\text{CO}_2} = A \quad [\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}].$$

Der **Lichtsättigungspunkt** (LSP), der in Anlehnung an SCHULZE (1970) als die PPFD defi-

niert ist, bei der 90 % der maximalen CO₂-Aufnahmerate erreicht werden, errechnet sich aus

$$[7] \quad \text{LSP} = \ln \left(\frac{0.1 \cdot A}{C} \right) \cdot \left(-\frac{1}{B} \right) \quad [\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{ s}^{-1}].$$

Der **Lichtkompensationspunkt** (LKP) ist mit dem Abzissenschnittpunkt der Lichtsättigungskurve [5] identisch, d. h. er entspricht der PPFD, an der $J_{\text{CO}_2} = 0$ ist:

$$[8] \quad \text{LKP} = \ln \left(\frac{A}{C} \right) \cdot \left(-\frac{1}{B} \right) \quad [\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{ s}^{-1}].$$

Die maximale **apparente Quantenausbeute** (Φ_{app}) entspricht dem Quotienten aufgenommener CO₂-Moleküle pro Anzahl auf das Blatt auftreffender Quanten im linearen Bereich der Lichtsättigungskurve. Sie wird aus der Anfangssteigung der Lichtsättigungskurve im LKP berechnet und entspricht der 1. Ableitung der Exponentialfunktion [5] für PPFD = LKP:

$$[9] \quad \Phi_{\text{app}} = f'(\text{LKP}) = e^{B \cdot (-\text{LKP})} \cdot B \cdot C \quad [\text{mol CO}_2 (\text{mol Quanten})^{-1}].$$

Die maximale **reelle Quantenausbeute** (Φ_{reell} ; in mol aufgenommenes CO₂ (mol absorbierte Quanten)⁻¹) ergibt sich nach Korrektur mittels der tatsächlich absorbierten Quanten (Bestimmung s. Kap. 2.2.13).

Die **Photorespirationsrate** (R_{Ph}) sowie der Anteil, um den die Netto-CO₂-Aufnahmerate durch die Photorespiration verringert wurde (% R_{Ph}), berechnen sich aus:

$$[10] \quad R_{\text{Ph}} = J_{\text{CO}_2}^2 - J_{\text{CO}_2} \quad [\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}]$$

$$[11] \quad \% R_{\text{Ph}} = 1 - \frac{J_{\text{CO}_2}}{J_{\text{CO}_2}^2} \quad [\%],$$

wobei J_{CO_2} die CO₂-Aufnahmerate bei 21 % O₂ in der Außenluft ist und $J_{\text{CO}_2}^2$ die CO₂-Aufnahmerate, die bei einem auf 2 % reduzierten O₂-Gehalt gemessen wurde.

Die **relative stomatäre Limitierung der CO₂-Assimilation** (RSL) wurde nach FARQUHAR und Sharkey (1982) folgendermaßen berechnet:

$$[12] \quad \text{RSL} = \left(\frac{J_{\text{CO}_2}^0 - J_{\text{CO}_2}}{J_{\text{CO}_2}^0} \right) \cdot 100 \quad [\%],$$

wobei J_{CO_2} die Netto-CO₂-Aufnahmerate für $c_a = 340$ ppm darstellt. $J_{\text{CO}_2}^0$ ist die potentielle Netto-CO₂-Aufnahmerate bei angenommener fehlender Limitierung durch die Stomata ($J_{\text{CO}_2}^0 > J_{\text{CO}_2}$) und ergibt sich daher für $c_i = 340$ ppm.

Der molare **Wassernutzungs-Koeffizient** (*water use efficiency*, WUE) bzw. der Kehrwert des *water use efficiency* (1/WUE) wurden folgendermaßen berechnet:

$$[13] \quad \text{WUE} = \frac{J_{\text{CO}_2}}{J_{\text{H}_2\text{O}}} \quad [\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}]$$

$$[14] \quad 1/\text{WUE} = \frac{J_{\text{H}_2\text{O}}}{J_{\text{CO}_2}} \quad [\text{mmol H}_2\text{O} (\mu\text{mol CO}_2)^{-1}].$$

2.2.4.2 Ermittlung der Blattflächen als Bezugsgröße

Nach abgeschlossener Gaswechsellmessung wurde der Umriss des in der Blattküvette eingespannten Blattstückes auf schwarzes Papier übertragen und ausgeschnitten. Mittels Scanner (Epson GT-6000) wurde diese Fläche (schwarz auf weiß) eingescannt und über das Programm PCX die für die Gaswechsellmessung relevante Fläche in cm² ermittelt.

2.2.5 BESTIMMUNG VON EPIDERMISZELL- UND STOMATADICHTE SOWIE STOMATAINDEX

Nach erfolgter Gaswechsellmessung und Blattflächenbestimmung wurde von den Blättern ein Stomataabdruck mittels Mikrorelief-Methode (PAZOUREK, 1963 und 1970) genommen. Dazu wurden jeweils relativ blattaderfreie Stücke der Ober- und Unterseite im mittleren Bereich der Blattspreite mit farblosem Nagellack eingestrichen. Nach dem Trocknen wurde dieser Abdruck mittels kristallklarem Tesafilm auf einen Objektträger übertragen. Die Auszählung der Stomata und der Epidermiszellen erfolgte mit Hilfe einer geeichten Okularmessplatte an einem Stereomikroskop (AxioLab® der Fa. Zeiss; 400fache Vergrößerung). Jeder Abdruck wurde an 10 verschiedenen Stellen ausgezählt.

Daraus errechneten sich die Dichten der Stomata (SD) sowie der Epidermiszellen (ED) (Anzahl pro Fläche). Der Stomataindex (SI; Stomataanzahl pro Gesamtanzahl der Epidermiszellen) wurde nach MEIDNER und MANSFIELD (1968) folgendermaßen berechnet:

$$[15] \quad \text{SI} = \frac{\text{SD}}{(\text{SD} + \text{ED})}.$$

2.2.6 BESTIMMUNG DER ADENYLATGEHALTE (ATP, ADP, AMP)

Die Bestimmung der AdN-Gehalte erfolgte mittels luminometrischem Test nach WULFF und DÖPPEN (1985) (ATP) bzw. der modifizierten Methode nach HAMPP (1985) (ADP, AMP). Die dabei genutzte Lichtemission der Luciferin-Luciferase-Reaktion bei 562 nm (③ und ④ des Messprinzips, Abb. 2) ist hoch ATP-spezifisch und über weite Bereiche proportional der ATP-Konzentration im Messansatz. In Abhängigkeit von Gerät und Methode können Endkonzentrationen im Messansatz zwischen 10^{-6} und 10^{-13} mol l⁻¹ erfasst werden (WULFF und DÖPPEN, 1985).

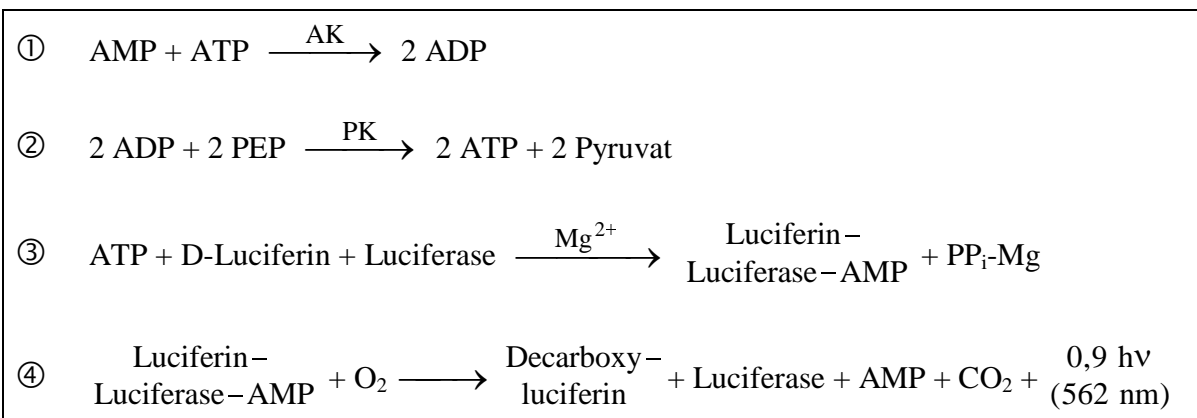


Abb. 2 Messprinzip der Bestimmung der AdN nach WULFF und DÖPPEN (1985) (③ und ④) sowie nach HAMPP (1985) (① und ②).

Die Extraktion der AdN erfolgte nach Homogenisierung mit Hilfe von flüssigem N₂ in 0.83 N HClO₄ (Verhältnis Ar_{Probe} : V_{Extraktionslösung} = 1.4 cm² : 1 ml). Das erhaltene Extrakt wurde 20 min bei 4000 U min⁻¹ und 4 °C zentrifugiert. Nach nochmaligem Auswaschen des Pellets in 0.83 N HClO₄ und erneuter Zentrifugation wurde dem vereinigten Überstand 1 M Bicine (im Verhältnis Extrakt : Bicine = 4 : 1) zugegeben und dieses mit 4 N KOH auf einen pH-Wert von 7.2 - 7.4 eingestellt. Nach 15minütiger Inkubation bei 4 °C wurden die neutralisierten Proben 5 min bei 1000 U min⁻¹ und 4 °C zentrifugiert. Der auf 10 ml mit HEPES (25 mM)/KOH + EDTA (0.48 mM) (pH 7.75) aufgefüllte Überstand wurde bis zur luminometrischen Messung bei - 20 °C gelagert.

Die Bestimmung von ATP erfolgte entsprechend dem Messprinzip (③ und ④, Abb. 2) direkt aus den neutralisierten Proben, während ADP und AMP zunächst enzymatisch (nach ② bzw. ① und ② des Messprinzips, Abb. 2) in ATP umgewandelt werden mussten. Dazu wurden Aliquots der Extrakte bei Raumtemperatur in folgenden Ansätzen inkubiert (Endvolumen 120 μ l):

ADP (Inkubationszeit 10 min):	Probe	20 μ l
	HEPES/KOH (pH 7.75)	5.2 mM
	PEP	0.3 mM
	Mg-Acetat	2.08 mM
	PK	1 U

AMP (Inkubationszeit 60 min):	Probe	20 μ l
	HEPES/KOH (pH 7.75)	5.2 mM
	PEP	0.3 mM
	Mg-Acetat	2.08 mM
	PK	1 U
	AK	5 U

Um die Blindwerte während der luminometrischen Messung gering zu halten, war es erforderlich, die PK und AK einmal mit dem 5fachen Volumen einer 3.2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung zu waschen. Die Erfassung der Lumineszenz erfolgte 10 sec nach Start der Reaktion für 5 sec am Biolumat LB 9501 (Fa. Berthold) in einem Messansatz mit folgender Zusammensetzung (Endvolumen 320 μ l):

	ATP	ADP/AMP
Probe bzw. Inkubationsansatz	20 μ l	120 μ l
HEPES/KOH (pH 7.75)	23.44 mM	15.63 mM
Mg-Acetat		5 mM
Na-EDTA		0.15 mM
DTT		12.6 μ M
HSA		0.075 % (w/v)
Luciferin		0.28 mM
Luciferase		5 μ U

Alle Reagenzien (außer HEPES/KOH) wurden während des Messtages auf Eis gelagert und erst unmittelbar vor der Messung bzw. Inkubation auf Raumtemperatur erwärmt.

Ein ATP-Standard, dessen Konzentration in der Stammlösung an Hand der Extinktion bei 260 nm ($\epsilon_{\text{ATP}} = 15.0 \text{ cm}^2 \mu\text{mol}^{-1}$; KEESEY, 1987) ermittelt wurde, diente im Rahmen einer

Verdünnungsreihe zur Quantifizierung. Die Gewährleistung der vollständigen enzymatischen Umwandlung von ADP und AMP wurde ebenfalls mit Standardsubstanzen getestet.

Die Wiederfindungsraten bei aufgeführter Aufarbeitung, Lagerung und Messung betrugen 95 % für ATP, 91 % für ADP und 72 % für AMP. Die relativ niedrigen Wiederfindungsraten für AMP lassen sich durch die sehr schwierige Erfassung von AMP durch die luminometrische Methode erklären, deswegen war bei den AMP-Gehalten auch eine weitaus höhere Standardabweichung zu verzeichnen.

Der *energy charge* (EC) wurde nach ATKINSON (1968) aus den Gehalten der einzelnen Adenylate folgendermaßen berechnet:

$$[16] \quad EC = \frac{[ATP] + 0.5 [ADP]}{[ATP] + [ADP] + [AMP]}.$$

2.2.7 BESTIMMUNG DER PYRIDINNUCLEOTGEHALTE (NAD⁺, NADP⁺, NADH⁺H⁺, NADPH⁺H⁺)

Die Bestimmung der PN erfolgte mittels *enzymatic cycling* spektralphotometrisch nach einer modifizierten Methode nach LOWRY *et al.* (1961b) und SLATER und SAWYER (1962). Dabei wird die enzymatische Umsetzung der PN an die nicht-enzymatische Reduktion und der daraus resultierenden Entfärbung des blauen Farbstoffes DCPIP gekoppelt, wobei PMS als Elektronenüberträger fungiert (Messprinzip, Abb. 3). Um bei der Untersuchung am Gesamtextrakt zwischen NADP(H⁺H⁺) und NAD(H⁺H⁺) unterscheiden zu können, nutzt man dank der proportionalen Abhängigkeit zwischen dem Co-Enzymangebot und der Enzymaktivität die Spezifität einzelner Enzyme bezüglich verschiedener Co-Substrate. Aus dem dafür zur Verfügung stehenden Spektrum kamen die NADP⁺-abhängige G6PDH (①; Abb. 3) und die NAD⁺-abhängige ADH zum Einsatz (②; Abb. 3). Diese Methode erlaubt eine Bestimmung der PN in Konzentrationen von bis zu 10⁻¹¹ mol (Messansatz)⁻¹, d. h. ca. 10⁻⁹ mol (g FM)⁻¹ (LOWRY *et al.*, 1961a; SLATER und SAWYER, 1962). Die Unterscheidung zwischen reduzierten und oxidierten PN basierte auf selektiver Extraktion, wobei die Instabilität von NAD(P)⁺ im alkalischen und NAD(P)H⁺H⁺ im sauren Milieu genutzt wurde.

Die Extraktion der PN erfolgte nach Homogenisierung mit Hilfe von flüssigem N₂ in 0.5 N HCl (oxidierte PN) bzw. 0.33 N KOH (reduzierte PN) (Verhältnis Ar_{Probe} : V_{Extraktionslösung} = 3 cm² : 1 ml). Das erhaltene Extrakt wurde 15 min bei 3200 U min⁻¹ und 4 °C zentrifugiert. Da NAD⁺ und NADP⁺ selbst im alkalischen Milieu eine gewisse Stabilität zeigen (KLINGENBERG, 1985), war für die Extrakte von NADH⁺H⁺ und NADPH⁺H⁺ eine 30minütige Inkubation bei Raumtemperatur erforderlich. Nach erfolgter Neutralisation der Überstände mit 1 M Tris/HCl

und 2 N NaOH (oxidierte PN, pH 7.2 - 7.4) bzw. 1 M TEA·HCl und 2 N HCl (reduzierte PN, pH 7.6 - 7.8) wurden die neutralisierten Proben 10 min bei 2800 U min^{-1} und $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ zentrifugiert. Der Überstand wurde bis zur spektralphotometrischen Messung bei $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert.

Die Bestimmung der PN erfolgte entsprechend dem Messprinzip (Abb. 3) in einem Messansatz mit folgender Zusammensetzung (Endvolumen 1.22 ml):

NADP(H⁺H⁺):	Probe	100 o. 200 μl
	Tris/HCl (pH 7.6)	24.6 mM
	Na-EDTA	1.6 mM
	DCPIP	0.11 mM
	PMS	0.61 mM
	G6P	2.46 mM
	G6PDH	10 U
NAD(H⁺H⁺):	Probe	100 o. 200 μl
	Tris/HCl (pH 7.6)	24.6 mM
	DCPIP	0.11 mM
	PMS	0.61 mM
	Ethanol	4.1 % (v/v)
	ADH	59 U

Alle Reagenzien wurden während des Messtages auf Eis gelagert und erst unmittelbar vor der Messung auf Raumtemperatur erwärmt.

Um die Blindwerte für die spektralphotometrische Messung gering zu halten, war es je nach Chargenqualität der Enzyme erforderlich, die G6PDH 1- bis 4mal mit dem 5fachen Volumen einer 3.2 M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung zu waschen bzw. die ADH mittels Gel-Filtration über eine Sephadex[®] G25M-Säule (PD-10, Fa. Pharmacia) zu reinigen.

Die Kinetik der DCPIP-Reduktion wurde bei 625 nm und einer Temperatur von $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ am Zweistrahlphotometer (Uvikon 931, Fa. Kontron) nach einem ca. 2minütigen Vorlauf zur Erfassung des Blindwertes und Start der Reaktion durch G6PDH bzw. ADH mindestens 5 min aufgenommen. Vor jeder Messserie erfolgte ein Reinheitstest der Enzyme, indem beim Vorlauf der Messansatz alle Reagenzien incl. Enzym ohne Standard beinhaltete und die Reaktion durch Zugabe des Standards gestartet wurde.

Standardsubstanzen (aufgrund der höheren Stabilität nur die jeweils oxidierten PN), deren

Konzentration in der 10- bis 100fach konzentrierten Stammlösung an Hand der Extinktion bei 260 nm ($\epsilon_{\text{NADP}^+} = 18.0 \text{ cm}^2 \mu\text{mol}^{-1}$; $\epsilon_{\text{NAD}^+} = 17.6 \text{ cm}^2 \mu\text{mol}^{-1}$; KEESEY, 1987) ermittelt wurde, dienten durch Variation des Volumens zur Quantifizierung.

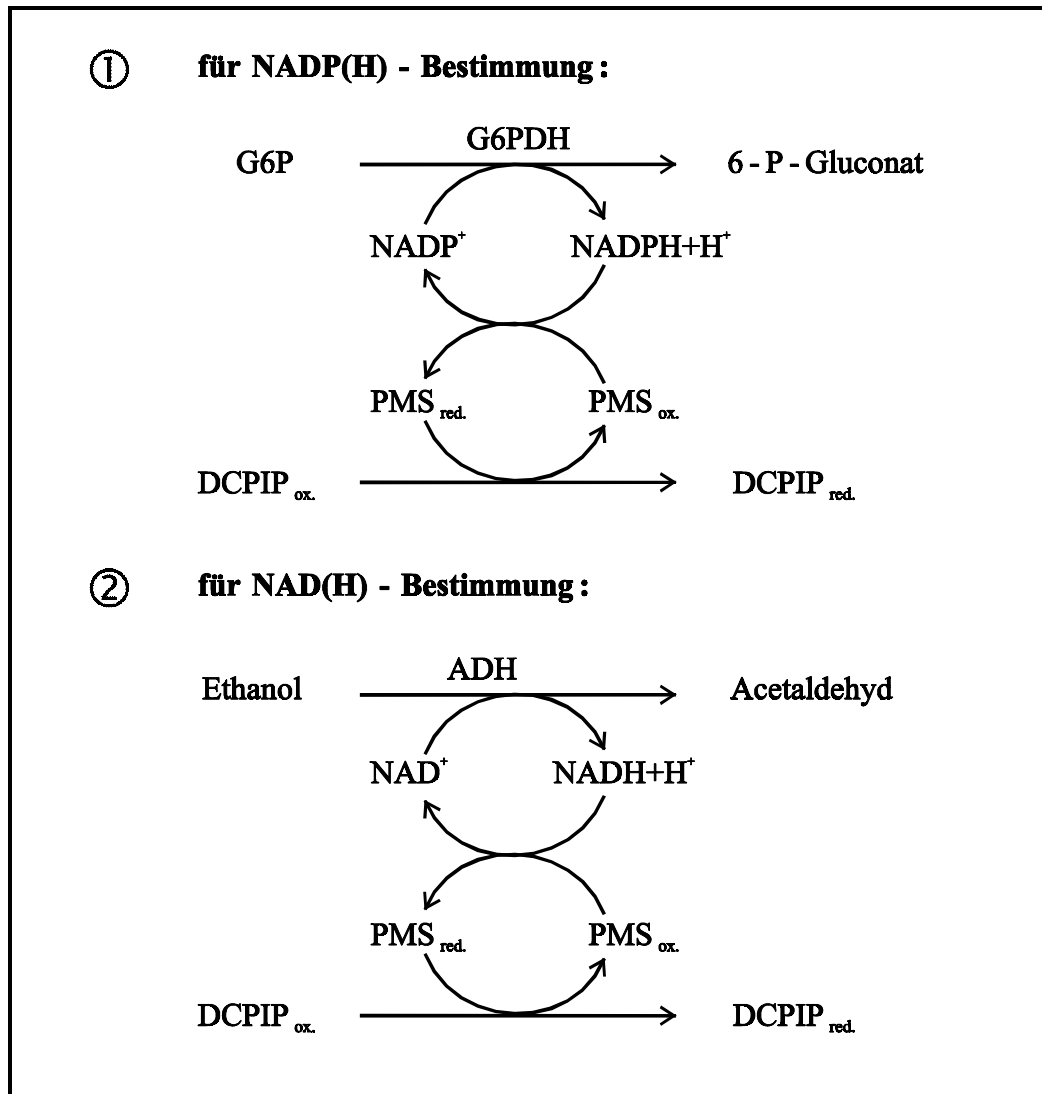


Abb. 3 Prinzip der spektralphotometrischen Messung der phosphorylierten PN (NADP(H⁺H⁺), ①) und nicht-phosphorylierten PN (NAD(H⁺H⁺), ②) mittels enzymatic cycling nach LOWRY *et al.* (1961b) und SLATER und SAWYER (1962).

Die Wiederfindungsraten bei der beschriebenen Aufarbeitungsmethode (Extraktion, Lagerung, Messung) betrugen für NAD⁺ 99 % und für NADP⁺ 96 % (jeweils in 5 unabhängigen Versuchen getestet) sowie für NADH⁺H⁺ 86 % und für NADPH⁺H⁺ 100 % (jeweils nur in 1 Versuch getestet).

Der *anabolic reduction charge* (ARC) und *catabolic reduction charge* (CRC) werden nach ANDERSEN und VON MEYENBURG (1977) aus den Gehalten der einzelnen Pyridinnucleotide entsprechend den Gleichungen [17] und [18] berechnet.

$$[17] \quad \text{ARC} = \frac{[\text{NADPH} + \text{H}^+]}{[\text{NADP}^+] + [\text{NADPH} + \text{H}^+]}$$

$$[18] \quad \text{CRC} = \frac{[\text{NADH} + \text{H}^+]}{[\text{NAD}^+] + [\text{NADH} + \text{H}^+]}$$

Der *redox charge* (RC) ist nach QUEBEDEAUX (1981) folgendermaßen definiert:

$$[19] \quad \text{RC} = \frac{[\text{NADPH} + \text{H}^+] + [\text{NADH} + \text{H}^+]}{[\text{NADP}^+] + [\text{NADPH} + \text{H}^+] + [\text{NAD}^+] + [\text{NADH} + \text{H}^+]}$$

2.2.8 BESTIMMUNG DER AKTIVITÄT DER NADP⁺-ABHÄNGIGEN MDH

Die Bestimmung der NADP⁺-MDH-Aktivität erfolgte spektralphotometrisch nach Verbrauch des Co-Enzyms NADPH⁺H⁺ in Anlehnung an die Methoden von SCHEIBE *et al.* (1986) und SCHEIBE und STITT (1988).

Da Veränderungen des Aktivitätszustandes der MDH mit der Reduktion von Disulfidbrücken verbunden sind (Scheibe, 1987), musste O₂ während der Aufarbeitung und Messung zur Vermeidung von oxidativ verursachten Artefakten weitgehend ausgeschlossen werden. Dazu wurden alle Lösungen mit N₂ begast und die Extraktion erfolgte in einer O₂-freien Box. Der Messansatz wurde während des Pipettierens mit N₂ überschichtet und danach die Küvetten mit Parafilm[®] verschlossen.

Die Extraktion der NADP⁺-MDH erfolgte nach Homogenisierung mit Hilfe von flüssigem N₂ in einem Extraktionsmedium mit folgender Zusammensetzung:

Na-Acetat (pH 6.0)	50 mM
Pefabloc [®] SC	100 µM
HSA	0.1 % (w/v)
Triton [®] X-100	0.1 % (v/v)
DTT	4 mM

Das Verhältnis von Ar_{Probe} : V_{Extraktionslösung} betrug 10 cm² : 1 ml.

Das erhaltene Extrakt wurde nach Abnahme eines Aliquots (200 µl) zur Chl-Bestimmung (s. Kap. 2.2.9) 1 min bei ca. 14000 U min⁻¹ und 4 °C (Biofuge 15, Fa. Heraeus) zentrifugiert.

Zur Bestimmung des Anteils an aktivem Enzym in den Proben wurde durch Inkubation eines Aliquots mit reduziertem DTT bei Raumtemperatur eine maximale Aktivierung der NADP⁺-MDH induziert (SCHEIBE und STITT, 1988). Der Aktivierungsansatz enthielt

(Endvolumen 200 µl):

Probe	80 µl
HSA	0.1 % (w/v)
Tris/HCl (pH 8.0)	0.4 M
DTT _{red} (in 1 M Tris/HCl, pH 9.0 vorgelöst)	0.1 M

Da Vorversuche gezeigt hatten, dass nach 30minütiger Aktivierung der Enzymaktivität ein Plateau erreicht war, wurde nach dieser Zeit die NADP⁺-MDH-Aktivität ermittelt.



Abb. 4 Prinzip der spektralphotometrischen Messung der Aktivität der NADP⁺-MDH nach SCHEIBE *et al.* (1986) und SCHEIBE und STITT (1988).

Die Bestimmung der *in vivo*- bzw. der Vollaktivität der NADP⁺-MDH erfolgte entsprechend dem Messprinzip (Abb. 4) in einem Ansatz mit folgender Zusammensetzung (Endvolumen 1.0 ml):

Probe	20 µl
bzw. Aktivierungsansatz	40 µl
Tris/HCl (pH 8.0)	0.1 M
HSA	0.01 % (w/v)
NADPH ⁺ H ⁺	0.2 mM
OAA	1 mM

OAA wurde während des Messtages auf Eis gelagert und erst unmittelbar vor Reaktionsstart auf Raumtemperatur erwärmt.

Die Kinetik der NADPH⁺H⁺-Umwandlung wurde nach einem ca. 3minütigen Vorlauf zur Erfassung des Blindwertes und Start der Reaktion mit OAA bei 340 nm und 25 °C am Zweistrahl-Spektralphotometer (Uvikon 931, Fa. Kontron) 10 min lang verfolgt.

Die Berechnung der *in vivo*- bzw. Vollaktivität der NADP⁺-MDH erfolgte mittels Extinktionskoeffizienten ($\epsilon_{\text{NADPH}^+\text{H}^+} = 6.2 \text{ cm}^2 \mu\text{mol}^{-1}$) in umgesetztes NADPH⁺H⁺ pro Zeit.

2.2.9 BESTIMMUNG DES CHLOROPHYLLGEHALTES

Eine Bestimmung des Chlorophyllgehaltes wurde von allen in den Versuchen genutzten Blättern vorgenommen und entweder spektralphotometrisch oder mit HPLC durchgeführt.

Die spektralphotometrische Bestimmung nach LICHTENTHALER und WELLBURN (1983) erlaubt die Ermittlung der Gehalte an Chl a und b. Dazu wurde das Pflanzenmaterial mit Hilfe von Quarzsand in 100 %igem Aceton unter Zugabe einer Spatelspitze MgCO_3 im Dämmerlicht homogenisiert und durch eine Schott'sche Fritte (G4, max. Porenweite 10 - 16 μm) mittels Vakuum gefiltert. Anschließend wurde das Extrakt mit 100 %igem Aceton auf 25 ml aufgefüllt. Je nach Chl-Gehalt erwies sich ein Verhältnis $\text{Ar}_{\text{Probe}} : V_{\text{Extraktionslösung}}$ von 0.16 - 0.21 $\text{cm}^2 : 1 \text{ ml}$ als geeignet. Die Proben wurden entweder sofort nach Extraktion oder nach 1- bis 2tägiger Lagerung bei - 20 °C im Dunkeln gemessen.

Für die Bestimmung des Chl-Gehaltes in den NADP^+ -MDH-Extrakten wurde das entnommene Aliquot (200 μl) mit 800 μl 100 %igem Aceton gut gemischt und bis zur Messung 1 - 2 d bei - 20 °C dunkel aufbewahrt. Vor der Messung wurden die Proben noch einmal gut geschüttelt, 2 min bei 14000 U min^{-1} (Biofuge 15, Fa. Haraeus) zentrifugiert und der Überstand auf 5 ml mit 100 %igem Aceton aufgefüllt.

Die Messung der Chl-Gehalte erfolgte am Zweistrahl-Spektralphotometer (Uvikon 931, Fa. Kontron) bei 720 nm (Trübung, Küvettenfehler), 662.5 nm (Chl a) und 645.5 nm (Chl b) gegen Blindwert.

Die Gehalte an Chl a und Chl b wurden nach Korrektur der Extinktionen bei 662.5 nm und 645.5 nm um die Abweichung bei 720 nm folgendermaßen berechnet:

$$[20] \quad c_{\text{Chl a}} = 11,75 \cdot E_{662,5} - 2,35 \cdot E_{645,5} \quad [\mu\text{g ml}^{-1}]$$

$$[21] \quad c_{\text{Chl b}} = 18,61 \cdot E_{645,5} - 3,96 \cdot E_{662,5} \quad [\mu\text{g ml}^{-1}].$$

Die Pigmentanalyse mittels HPLC erfolgte nach dem Prinzip der *reversed phase chromatography* entsprechend einer modifizierten Methode nach THAYER und BJÖRKMAN (1990) sowie WOITKE *et al.* (1994). Sie erlaubt die Trennung und Quantifizierung von Chl a und Chl b sowie von β -Carotin, Lutein, Neo-, Anthera-, Zea- und Violaxanthin.

Dafür wurde das gefrorene Pflanzenmaterial mit Hilfe von Quarzsand unter Zugabe von MgCO_3 im Dämmerlicht in 85 %igem (2 Teile) und anschließend in 100 %igem Aceton (3 Teile) homogenisiert (Verhältnis $\text{Ar}_{\text{Probe}} : V_{\text{Extraktionslösung}} = 0.8 - 1.1 \text{ cm}^2 : 1 \text{ ml}$) und durch eine Schott'sche Fritte (G4, maximale Porenweite 10 - 16 μm) mittels Vakuum filtriert. Die Proben wurden bis zur Analyse (am selben Tag) dunkel bei - 20 °C gelagert.

Das HPLC-System der Fa. Waters bestand aus einem Autosampler (Waters 717plus) mit einem Heizungs-/Kühlaggregat (*heater/cooler*) zur Kühlung des Probenraumes, einem Pumpensystem (Waters 600E-system controller und Waters 600-fluid unit) sowie einem Photo-

diodenarray-Detektor (Waters PDA 996). Zur Pigmentauftrennung diente eine Waters *Resolve* C18 5 μ *Radial-Pak*-Säule (8 x 100 nm) in Verbindung mit einem Waters RCM 8 x 10 Modul und einer Vorsäule (Waters *Guard-Pak Inserts Resolve* C18). Das Injektionsvolumen der durch Filtration über einen 0.2 μ m PTFE-Membranfilter vorbereiteten Pigmentproben betrug 50 - 100 μ l. Die Trennung der Pigmente erfolgte bei einer Flussrate von 1.5 ml min⁻¹ über folgenden Laufmittelgradienten (Laufmittel A = Acetonitril/Methanol 85 : 15; Laufmittel B = Methanol/ Ethylacetat 68 : 32; mit Helium entgast):

6 min	isokratisch 100 % A
2 min	linearer Gradient von 100 % A zu 100 % B
7 min	isokratisch 100 % B
1 min	linearer Gradient von 100 % B zu 100 % A
9 min	isokratisch 100 % A.

Die Peaks wurden im jeweiligen Absorptionsmaximum detektiert. Standardsubstanzen, deren Konzentrationen an Hand ihrer Extinktionen am Spektralphotometer (Uvikon 931, Fa. Kontron) ermittelt wurden, dienten zur Quantifizierung. Die Berechnung der Pigmentkonzentrationen erfolgte über Integration der Peakflächen mittels HPLC-Software Millennium 2010 (Version 2.00).

Vergleichende Untersuchungen ergaben keine signifikanten Unterschiede der Pigmentgehalte zwischen den beiden Aufarbeitungs- und Messmethoden für das angegebene Pflanzenmaterial unter den gegebenen Bedingungen.

2.2.10 BESTIMMUNG DES GEHALTES AN LÖSLICHEN PROTEINEN

Die löslichen Proteine wurden nach der Methode von BRADFORD (1976) bestimmt. Diese Methode beruht darauf, dass der Farbstoff Coomassie® Brillantblau G 250 [*Acid Blue* 90], der SH-Gruppen enthält, im stark sauren Milieu Protein-Amino- und Iminogruppen bindet. Die sich bildende Verbindung kann nach 5 bis 60 min spektralphotometrisch bei ihrem Absorptionsmaximum von 595 nm nachgewiesen werden.

Dazu wurde das gefrorene Pflanzenmaterial mit Hilfe von Quarzsand in 66.7 mM KH₂PO₄/Na₂HPO₄ (nach Sörensen, pH 7.4) homogenisiert (Verhältnis Ar_{Probe} : V_{Extraktionslösung} = 2.2 - 2.7 cm² : 1 ml). Danach wurden die Extrakte 15 min bei 1750 U min⁻¹ (Centrikon T-324, Fa. Kontron) zentrifugiert.

Die Bestimmung des Gehaltes an löslichen Proteinen erfolgte spektralphotometrisch (Uvikon 931, Fa. Kontron) gegen Blindwert in einem Messansatz mit folgender Zusammensetzung (Endvolumen 2.55 ml):

Probe	25 μ l
KH ₂ PO ₄ /Na ₂ HPO ₄ ·H ₂ O (pH 7.4)	0.65 mM
Ethanol	4.66 % (v/v)
H ₃ PO ₄	1.45 M
Coomassie [®] Brillantblau G 250	0.12 mM

Zur Quantifizierung diente HSA (Reinheit ≥ 96 %) in einer Verdünnungsreihe von 0.1 bis 0.01 % (w/v).

2.2.11 BESTIMMUNG DES KOHLENSTOFF- UND STICKSTOFFGEHALTES

Die Bestimmung des C- und N-Gehaltes erfolgte nach KÜHL und KOHL (1992). Dazu wurde das Pflanzenmaterial unmittelbar nach Probenahme und Ermittlung der Frischmasse bei 65 °C im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz (mind. 3 d) getrocknet. Die Temperatur von 65 °C wurde gewählt, um Stickstoffverluste zu vermeiden. Nach Bestimmung der Trockenmassen wurden die Proben fein homogenisiert und mit einer elektronischen Mikrowaage (Sartorius 4001) á 5 mg in Alu-Schiffchen portioniert.

Die Bestimmung des N- und C-Gehaltes erfolgte als Doppelbestimmung mit dem Elementaranalysator Mikro U/D (Fa. Heraeus) nach dem Prinzip der trockenen Verbrennung. Der Stickstoff wurde volumetrisch mit dem Doppel-Azetomaten AZ/D (Fa. Heraeus) bestimmt. Kohlenstoff wurde als Kohlendioxid mittels Absorptionsröhrchen aufgefangen und aus der Massendifferenz des Röhrchens vor und nach der Analyse ermittelt.

Zur Kontrolle wurden während der C- und N-Analysen Messungen an Kreatinin, einer Substanz mit bekanntem C- und N-Gehalt, durchgeführt. Die C- und N-Konzentrationen wurden auf die Trockenmasse bezogen angegeben.

2.2.12 BESTIMMUNG DER GEHALTE AN STÄRKE UND LÖSLICHEN ZUCKERN

Die Bestimmung des Gehaltes an Stärke und an wasser- und alkohollöslichen Zuckern erfolgte nach den Methoden von HEINZE und PRAZNIK (1991) und ALBRECHT *et al.* (1993) (Extraktion und Bestimmung der Zucker) sowie einer modifizierten Methode nach BOEHRINGER MANNHEIM (1995) und FISCHER (1999) (Extraktion und Bestimmung der Stärke).

Die Extraktion der wasser- und alkohollöslichen Zucker erfolgte durch Kochen der Blattscheiben mit 20 %igem Ethanol für 20 min in einem Wasserbad (Verhältnis $FM_{\text{Probe}} : V_{\text{Ethanol}} = 100 \text{ mg} : 1 \text{ ml}$) und 2maligem nachfolgendem Kochen mit dest. H₂O (Verhältnis $FM_{\text{Probe}} : V_{\text{H}_2\text{O}} = \text{je } 200 \text{ mg} : 1 \text{ ml}$). Die vereinigten Überstände wurden über einen Papierfilter grob gereinigt und weiter für die Zuckerbestimmung aufgearbeitet, während die

ausgekochten Blattscheiben bei 105 °C mindestens 3 d bis zur Gewichtskonstanz im Trockenschrank (WS 30, Fa. MLW) getrocknet wurden und zur Stärkebestimmung dienten (s. u.). Die vorgereinigten Überstände wurden bei 40 °C mit Hilfe eines Rotationsverdampfers (Rotavapor RE 111, Fa. Büchi, Schweiz) mit Wasserbad (Büchi 461) vakuumgetrocknet und der trockene Überstand in 1 ml dest. H₂O gelöst. Das Extrakt wurde durch Nachspülen mit dest. H₂O über je einen Anionen- und einen Kationenaustauscher (Amberlite[®] IRA-68 bzw. IRC-50) zur Eliminierung von ionischen Verbindungen geschickt und über eine *reversed phase*-Kartusche (Sep-Pak[®] Plus C18, Fa. Millipore) gereinigt. Das erhaltene Extrakt wurde nochmals bei 40 °C vakuumgetrocknet, in 1 ml dest. H₂O aufgenommen und bis zur Bestimmung der löslichen Zucker bei -20 °C in Eppendorfgefäßen gelagert. Unmittelbar vor der Messung wurden die Proben 15 min bei 6000 g zentrifugiert und der Überstand in HPLC-Vials überführt.

Die Analyse von Saccharose, Glucose und Fructose mittels HPLC wurde dankenswerterweise von Dr. G. Albrecht (AG Botanik und Biologiedidaktik, Institut für Biologie, HU Berlin) übernommen. Das HPLC-System der Fa. Waters bestand aus einem Autosampler (Waters 717plus), einem Pumpensystem (Waters 625LC System) sowie einem Detektor (Waters 410 *Differential Refractometer*). Zur Separation der löslichen Zucker diente eine *Carbohydrate Pb²⁺*-Säule (300 x 8 mm, CS Langerwehe) in Verbindung mit einer Vorsäule (Waters *Sugar Pac[®] II*). Die Temperatur im Waters-Säulenofen lag bei 80 °C. Das Injektionsvolumen betrug 10 - 20 µl. Die Trennung der Zucker erfolgte isokratisch mit entgastem Eiswasser (Milli Q) als Eluent bei einer Flussrate von 0.7 ml min⁻¹ in einer Gesamtlaufzeit von 22 min je Probe.

Standardsubstanzen von Sac, Glu und Fruc dienten zur Quantifizierung. Die Berechnung der Zuckerkonzentrationen erfolgte über Integration der Peakflächen mittels HPLC-Software.

Die für die Stärkemessung bestimmten getrockneten Proben wurden fein homogenisiert und in eine lösliche Form überführt. Dazu wurde ein Aliquot von ca. 10 bis 45 mg TM mit DMSO und 8 M HCl (im Verhältnis DMSO : HCl = 4 : 1) versetzt und, mit Parafilm[®] abgedeckt, bei 60 °C im Schüttelwasserbad für 30 min inkubiert. Die auf 25 °C abgekühlten Proben wurden mit Citratpuffer (bestehend aus 0.112 M Citronensäure und 0.112 M Natriumcitrat) abgepuffert und mittels 8 M NaOH auf pH 4.6 eingestellt.

Der Aufschluss der als Amylose und Amylopektin mit unterschiedlichen Kettenlängen vorliegenden Ethanol-unlöslichen Stärke in D-Glucose (Abb. 5, ①) erfolgte nach Zugabe von AGS in Citratpuffer (4 U AGS/Probe) über 20 h bei 37 °C im Schüttelwasserbad. Die über Papierfilter gereinigten Extrakte wurden mit dest. H₂O auf 6 ml aufgefüllt und bis zur enzymatischen Messung bei - 20 °C gelagert.

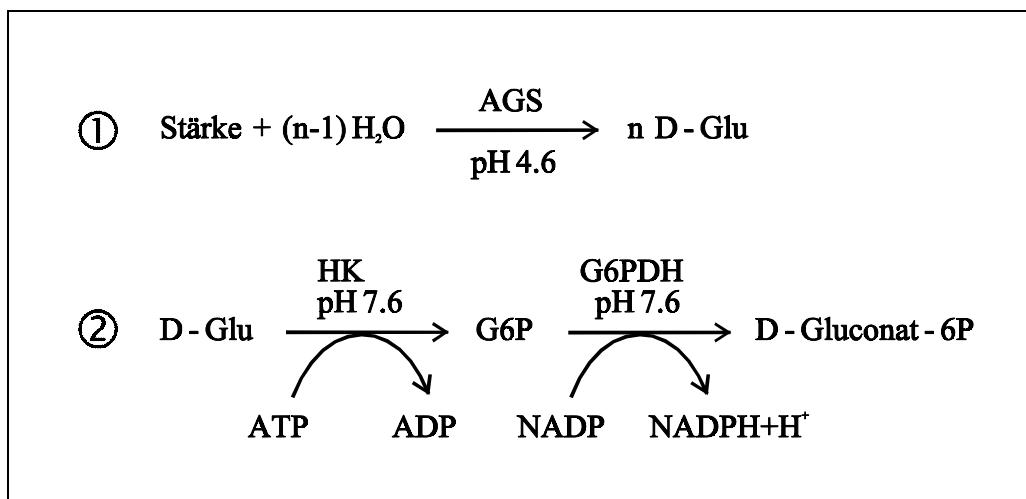


Abb. 5 Aufschluss der Stärke (①) und Messprinzip der spektralphotometrischen Bestimmung (②) nach BOEHRINGER MANNHEIM (1995) und FISCHER (1999).

Die Bestimmung des Gehaltes an durch Hydrolyse der Stärke gebildeter D-Glu erfolgte entsprechend dem Messprinzip (Abb. 5, ②) spektralphotometrisch gegen Leerwert in einem Messansatz mit folgender Zusammensetzung (Endvolumen 1.026 ml):

Probe	50 µl
TEA·HCl (pH 7.6)	0.25 M
MgCl ₂ ·6H ₂ O	3.3 mM
ATP·3H ₂ O	2.66 mM
NaHCO ₃	19.1 mM
NADP ⁺	0.41 mM
G6PDH	1.5 U
HK	5 U

Da die während der Reaktion gebildete NADPH⁺H⁺-Menge der D-Glu-Menge proportional ist, war NADPH⁺H⁺ Messgröße und wurde aufgrund seiner Absorption bei 340 nm am Zweistrahlphotometer (Uvikon 931, Fa. Kontron) bestimmt. Die Extinktion (E) wurde nach einem ca. 2minütigen Vorlauf zur Erfassung des Blindwertes (E₁) und Start der Reaktion durch HK bis zum Stillstand der Reaktion nach ca. 10 bis 20 min (E₂) erfasst.

Die Berechnung des Gehaltes an Stärke erfolgte nach folgender Formel:

$$[22] \quad c_{\text{Stärke}} = (E_2 - E_1) \frac{V \cdot M_r}{\epsilon \cdot d \cdot v} \quad [\mu\text{g ml}^{-1}],$$

wobei V Endvolumen in Küvette [ml]

M_r Molekulargewicht von Stärke [= M_{rGlu} - M_{rH2O} = 162.1 g mol⁻¹]

- ε Extinktionskoeffizient von NADPH^+H^+ bei 340 nm [$\varepsilon_{\text{NADPH}^+\text{H}^+} = 6.3 \text{ cm}^2 \mu\text{mol}^{-1}$]
 d Schichtdicke der Küvette [cm]
 v Probenvolumen [ml].

Als Kontrolle des Messverlaufes diente ein D-Glucose-Standard in Konzentrationen von 100 bis $800 \mu\text{g ml}^{-1}$.

Die relative über Nacht abgebaute, d. h. die für Atmungsprozesse und Export verbrauchte Menge an Stärke bzw. löslichen Zuckern ($\Delta S/Z$) ergab sich durch die Berechnung

$$[23] \quad \Delta S / Z = \frac{L - D}{L} \cdot 100 \quad [\%],$$

wobei L die Gehalte an Stärke, Saccharose, Glucose oder Fructose in den Lichtproben (0.5 h vor Beendigung der Lichtphase) und D die entsprechenden Werte in den Dunkelproben (0.5 h vor Beendigung der Dunkelphase) darstellen (s. Tab. 1).

2.2.13 LICHTABSORPTION DER BLÄTTER

Zur Messung der Transmissions- und Reflexionsspektren der Blätter diente ein Zweistrahl-Spektralphotometer (Specord M500, Fa. Carl-Zeiss Jena) mit einer integrierenden Kugel (Ulbricht-Kugel). Die Innenwand der Ulbricht-Kugel ist mit einem speziellen Pulver (KODAK *white reflectance coating*) beschichtet, dessen Hauptkomponente BaSO_4 ist. Dadurch werden alle in die Kugel eintreffenden, durch die Blattprobe stark gestreuten Lichtstrahlen so lange reflektiert, bis sie auf den Detektor am hinteren Teil der Kugel treffen. Parallelmessungen mit einem tragbaren Spektralradiometer LI-1800 mit integrierender Kugel LI-1800-12 (Fa. LI-COR, Lincoln, NA) dienten der Überprüfung der Genauigkeit des Zweistrahlphotometers (Specord M500) und ergaben keine Unterschiede der aufgenommenen Spektren.

Die Transmissions- und Reflexionsspektren wurden an frisch abgeschnittenen Blättern über den Spektralbereich von 400 bis 750 nm in 1 nm-Schritten aufgenommen und auf Spektren einer Messung ohne Blatt normiert.

Das **Transmissionsspektrum** (t_λ) wurde aufgezeichnet, indem das Blatt vor die Öffnung der Ulbricht-Kugel, durch die das Licht eintrat, gespannt wurde. Somit wurde nur der Teil der senkrecht auf das Blatt auftreffenden monochromatischen Strahlung registriert, der durch das Blatt in die Ulbricht-Kugel eintrat.

Das **Reflexionsspektrum** (r_λ) wurde aufgenommen, indem auf das an einer Öffnung an der

hinteren Wand der Kugel befindliche Blatt ein senkrechter Lichtstrahl traf und somit nur der reflektierte Anteil in der Kugel verblieb und gemessen werden konnte.

Da das eingestrahlte Licht (= 100 %) vom Blatt entweder transmittiert, reflektiert oder absorbiert wird, errechnet sich das **Absorptionsspektrum** (a_λ) des Blattes nach Gleichung [24] für jede Wellenlänge (λ) im Bereich von 400 bis 750 nm.

$$[24] \quad a_\lambda = 100 - r_\lambda - t_\lambda \quad [\%]$$

Das mittlere Absorptionsvermögen (in %) des Blattes ergab sich nach Mittelung der Absorption über den Spektralbereich von 400 bis 700 nm.

Die Menge an reell absorbierten Quanten des Anzuchtlichtes im Spektralbereich von 400 bis 700 nm wurde errechnet, indem für jede Wellenlänge (λ) die nach [24] ermittelte relative Absorption ($a_\lambda/100$) mit der Emission der für die Pflanzenanzucht verwendeten Lampen (Abb. 1) multipliziert und die erhaltenen Werte für $\lambda = 400 - 700$ nm aufsummiert wurden.

2.2.14 LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE AUFNAHMEN

Zur Charakterisierung der Blattmorphologie und der Chloroplastenfeinstruktur dienten Aufnahmen mittels Licht- bzw. Transmissions-Elektronenmikroskopie, welche von Dr. W. Bleiß und Frau A. Marko (AG Molekulare Parasitologie, Institut für Biologie, HU Berlin) angefertigt wurden. Dazu wurden Gewebestücke aus mittleren Interkostalfeldern der Blätter von ca. 1 x 1 mm Größe für 3 h (die ersten 30 min unter Vakuum) in 2.5 %igem Glutaraldehyd in 50 mM Natrium-Cacodylatpuffer (pH 7.2) bei Raumtemperatur und anschließend 2 Tage bei 4 °C fixiert. Nach 3maligem Waschen á 15 min bei 4 °C mit Cacodylatpuffer wurden die Proben in 2 %igem OsO₄ in gleichem Puffer für 4 h bei 25 °C und weitere 3 h bei 4 °C nachfixiert. Danach erfolgte ein Waschgang in 50 mM Na-Maleatpuffer (pH 5.2). Weiterhin wurden die Proben in 1 %igem Uranylacetat in Maleatpuffer über Nacht bei 4 °C fixiert. Nach anschließendem 3maligem Waschen in Maleatpuffer (á 15 min bei 4 °C) wurden die Proben in einem Ethanolgradienten bei 25 °C (100 %iges Ethanol) bzw. 4 °C dehydriert. Danach wurden die Proben in Spurr's Epoxidharz (SPURR, 1969) eingebettet, die Polymerisation erfolgte für 24 h bei 70 °C.

Für die lichtmikroskopischen Untersuchungen der Blatt- und Zellstrukturen wurden die Epoxidharzblöcke mit einem Ultramikrotom mit integriertem Glasmesser (Ultracut S; Fa. Reichert-Jung) geschnitten und mit Methylblau (Polychrom, Fa. Unna) bei 70 °C angefärbt.

Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen der Chloroplastenfeinstruktur wurden die Blöcke mittels Ultramikrotom geschnitten und mit 4 %igem Uranylacetat in wässriger Lösung

und abschließend mit Bleicitrat angefärbt (REYNOLDS, 1963). Zur Untersuchung der Ultradünnschnitte diente ein Transmissions-Elektronenmikroskop (EM 900; Fa. Zeiss).

2.2.15 REAGENZIEN UND CHEMIKALIEN

Die verwendeten Bioreagenzien (Enzyme, AdN- und PN-Standards) wurden von der Fa. BOEHRINGER MANNHEIM bezogen. Alle anderen Chemikalien stammten von den Firmen FLUKA, MERCK bzw. SERVA.

2.2.16 STATISTISCHE BERECHNUNGEN

Die gesamte in dieser Arbeit durchgeführte statistische Bearbeitung der Messdaten erfolgte nach den in GRIMM und RECKNAGEL (1985) beschriebenen Methoden. Angegeben sind jeweils das arithmetische Mittel \bar{x} mit der Standardabweichung s der jeweiligen Stichprobe mit dem gewählten Umfang n . Der t-Test wurde jeweils als zweiseitiger Test für zwei Stichproben (Kontrolle und Behandlung) nach Varianzvergleich (F-Test) angewendet. Die Angaben zum t-Test bedeuten:

- $p > 0.05$, d. h. nicht signifikant,
- + $0.05 \geq p > 0.01$, d. h. signifikant mind. auf dem 5 %-Niveau,
- ++ $0.01 \geq p > 0.001$, d. h. signifikant mind. auf dem 1 %-Niveau,
- +++ $0.001 \geq p$, d. h. signifikant mind. auf dem 0.1 %-Niveau.

3 ERGEBNISSE

3.1 CHLOROPHYLLGEHALT

Durch die Expression einer invers orientierten mRNA für GSA-AT (s. S. 9 und S. 13) kam es in den Tabak-Transformanten zu einer verringerten Gesamt-Aktivität der GSA-AT (HÖFGEN *et al.*, 1994), was letztendlich zu einer reduzierten Chlorophyllbiosynthese führte.

Der Chl-Gehalt wurde in allen laufenden Versuchen mit einer der unter 2.2.9 beschriebenen Methoden bestimmt. Streng standardisierte Anzucht-, Probenahme- und Messbedingungen in sämtlichen Versuchen erlaubten, alle Ergebnisse in einer Graphik zusammenzufassen. Die Bestimmung des Chl-Gehaltes in jeder Versuchsreihe ermöglichte zudem eine Kontrolle des Materials, die als Grundlage für das Zusammenfassen und den Vergleich von aus zeitlich versetzten Versuchsreihen erhaltenen Ergebnissen diene.

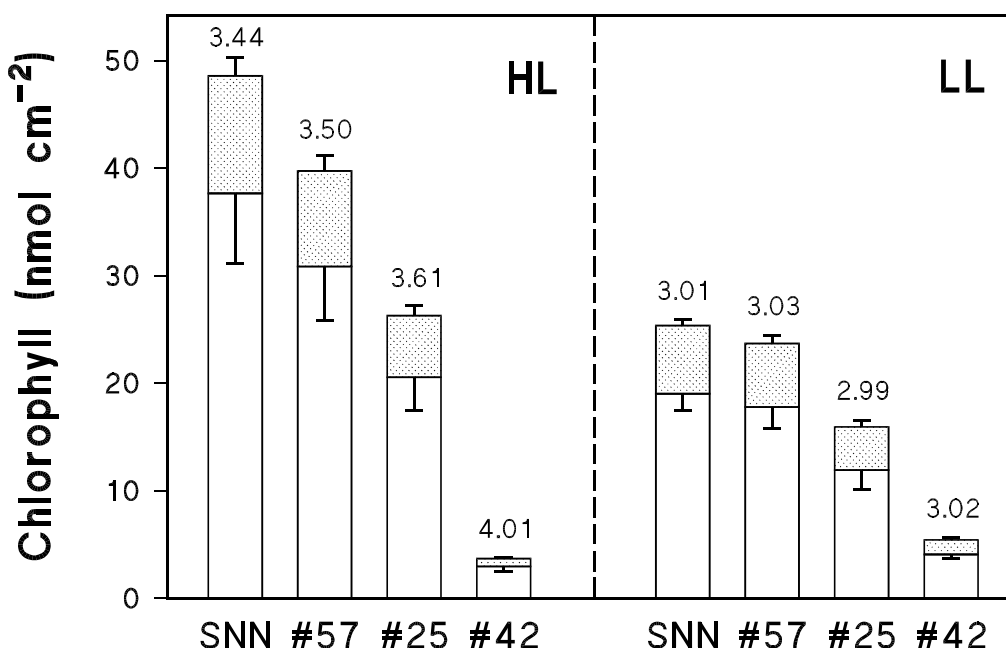


Abb. 6 Gehalt an Chlorophyll a (□) und b (■) (in nmol cm⁻²) in Blättern von unter HL (links) und LL (rechts) angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} \pm s$, $n \geq 42$). Die Werte über den Balken geben das Chlorophyll a/b-Verhältnis an (\bar{x} ; $s = 1.1 - 5.8 \%$).

Der Gehalt an Gesamtchlorophyll (in nmol cm⁻²) (Abb. 6) war in den TF graduell geringer als in den Wildtyppflanzen. So enthielten unter HL die Blätter der #57 um 18 %, der #25 um 46 % und der #42 um 92 % weniger Chlorophyll als die der SNN-Pflanzen. Unter diesen Bedin-

gungen war eine stärkere Reduzierung an Chl b als an Chl a zu erkennen, was sich in einem signifikant (mit mind. $p < 0.01$) steigenden Chl a/b-Verhältnis mit sinkendem Gesamtchlorophyll-Gehalt äußerte (Abb. 6, Werte über den Balken). Bei Anzucht unter LL enthielten die Blätter der transgenen Pflanzen 93 % (#57), 63 % (#25) bzw. 21 % (#42) vom Chlorophyll der vergleichbaren Kontrolle. Hier waren die Gehalte an Chlorophyll a und b in gleichem Maße verringert, was sich in einem nicht signifikant unterschiedlichen Chl a/b-Verhältnis widerspiegelt (Abb. 6).

Im Vergleich gleichartiger Pflanzen unter verschiedenen Anzucht-PPFD's zeigte sich, dass der WT, die #57 und die #25 unter LL-Bedingungen ca. die Hälfte (52 %, 60 % und 61 %) der Chl-Menge der HL-Pflanzen enthielten. Die Blätter der #42 dagegen besaßen unter LL 48 % mehr Gesamt-Chl als die entsprechenden Pflanzen der HL-Variante (Abb. 6).

3.2 MORPHOLOGIE UND ANATOMIE SOWIE WACHSTUM UND ENTWICKLUNG DER BLÄTTER UND PFLANZEN

3.2.1 CHARAKTERISIERUNG DER PFLANZEN

In diesem Kapitel sollen die makroskopisch sichtbaren Veränderungen der Pflanzen durch Licht- bzw. Chlorophyllmangel beschrieben werden. Diese wurden in mehreren unabhängigen Versuchsreihen bonitiert und dienten, ebenfalls wie der Chl-Gehalt, als Kontrolle für die Vergleichbarkeit von Pflanzen aus zeitlich versetzten Versuchsreihen. Da die Art und Stärke der Symptomausprägung bei Chlorophyll-Defizienz u. a. von den Kulturbedingungen wie z. B. den Licht- und Temperaturverhältnissen sowie dem Substrat und dem Nährstoffangebot abhängen (HÖFGEN *et al.*, 1994; FALBEL und STAEHELIN, 1996), wurde einerseits auf gleiche Bedingungen in den Messreihen geachtet. Andererseits können die erzielten Ergebnisse auch nur im Rahmen der im Kap. 2.1 beschriebenen Versuchsbedingungen diskutiert werden.

3.2.1.1 Phänotyp der Pflanzen

In den Abb. 7.1 und 7.2 sind die jeweils unter Stark- und Schwachlicht angezogenen Wildtyp- und transgenen Pflanzen abgebildet. Die Aufnahmen entstanden im Herbst 1996 während einer Versuchsreihe, in der die Pflanzen die typischen morphometrischen Werte und Chlorophyllgehalte aufwiesen. Die Pflanzen wurden einige Tage, bevor sie biochemischen und physiologischen Untersuchungen dienten (s. Tab. 1), photographiert. Sie waren dementsprechend zum Zeitpunkt der Aufnahme 35 bis 55 Tage alt. Dieses unterschiedliche kalendarische Alter ergibt sich aus der in Kap. 3.2.2 beschriebenen Tatsache, dass aufgrund der unterschiedlichen Entwicklungsdauer der Pflanzen das ontogenetische Alter ausschlaggebend für die Auswahl des Pflanzenmaterials sein muss.

Die Pflanzen der #57 und #25 wirkten trotz geringerer Höhe in ihrem Habitus ähnlich kräftig wie der WT, die #42 dagegen war schon rein äußerlich kleiner und schwächer als die SNN. Das traf sowohl für den Vergleich der HL- (Abb. 7.1) als auch der LL-Pflanzen (Abb. 7.2) untereinander zu. Auch die Ausbildung der Wurzelmasse war bei der #42 im Vergleich zum WT offensichtlich geringer (o. Daten). Im Vergleich der unter zwei verschiedenen Lichtintensitäten angezogenen Pflanzen waren alle LL-Pflanzen deutlich schwächer als die Pflanzen der entsprechenden HL-Variante. Die Blätter waren kleiner, dünner und empfindlicher, die Blattstiele schmäler und länger, der Spross dünner und weniger stabil (Abb. 7), die Wurzeln viel schwächer ausgebildet (o. Daten).

Die genetische Transformation und der damit verbundene verringerte Chl-Gehalt führte bei den Tabakpflanzen zur Ausbildung von Chlorosen. Wie aus den Abb. 7.1 und 7.2 deutlich wird, sind die Chlorosen nicht in allen TF gleichmäßig über die Blattspreite verteilt, sondern äußern sich in einem typischen Muster. So zeigten die Blätter der #57 die chlorotischen Stellen nur entlang der Blattadern (Abb. 7.1B, 7.2B). Die Blätter der #25 waren gleichmäßig in kleinen Flecken panaschiert (Abb. 7.1C, 7.2C). Diese Färbung der Blätter der transgenen #57 und #25 trat unter HL deutlicher zu Tage, da unter diesen Bedingungen die grünen Areale dunkler im Vergleich zu den unter LL angezogenen Pflanzen waren und somit die Panaschierung stärker zum Ausdruck kam. Die Pflanzen der #42 bildeten uniforme gelbe (HL) bis hellgrüne (LL) Blätter (Abb. 7.1D, 7.2D). Der in den Blättern von unter LL-Bedingungen angezogenen Pflanzen des Wildtyps, der #57 und #25 geringere sowie der #42 höhere Chlorophyllgehalt im Vergleich zu den HL-Varianten (Abb. 6) war schon rein äußerlich zu erkennen.

A



B



C



D



Abb. 7.1 Unter HL angezogene Tabakpflanzen der SNN (A), #57 (B), #25 (C) und #42 (D).

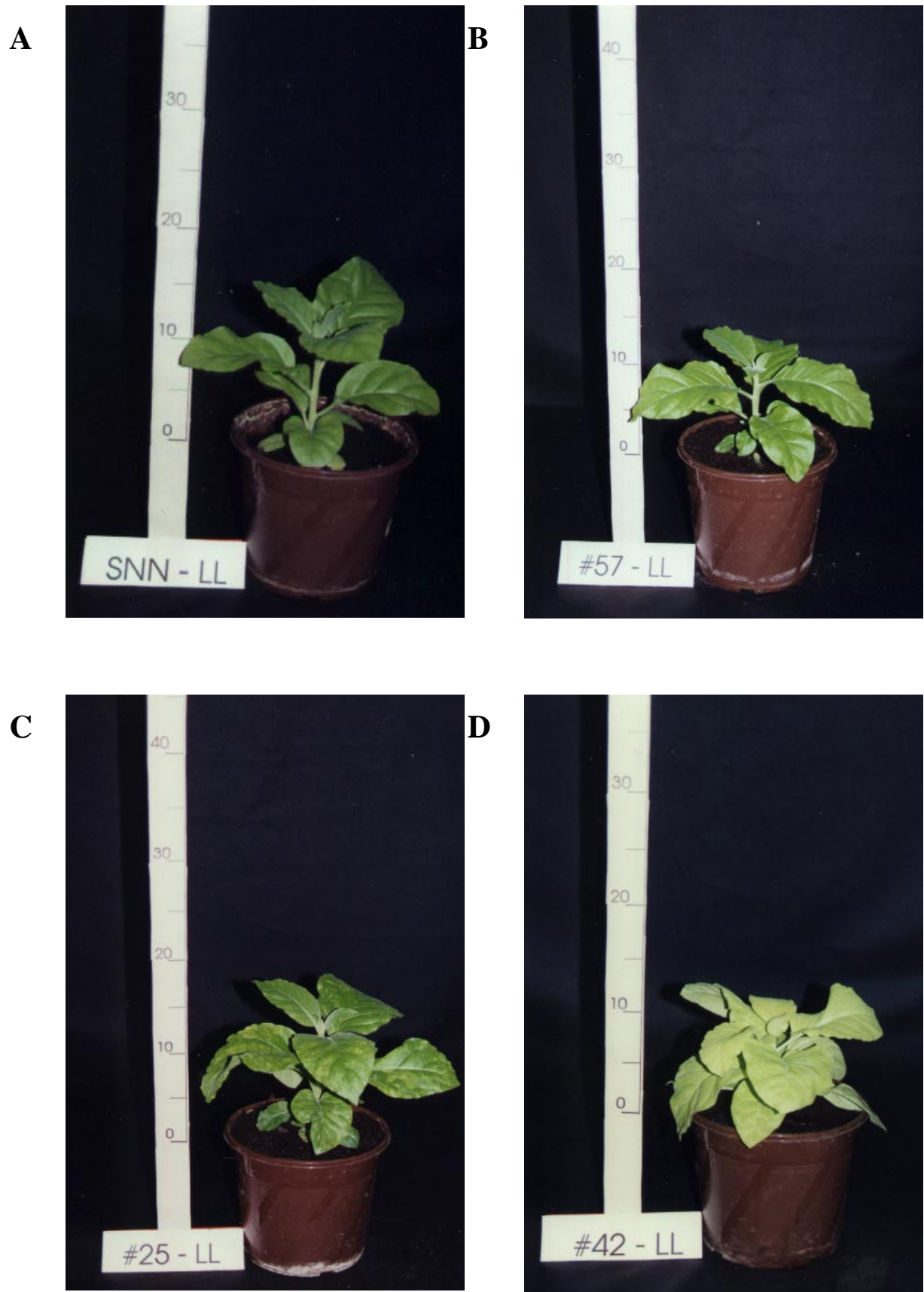


Abb. 7.2 Unter LL angezogene Tabakpflanzen der SNN (A), #57 (B), #25 (C) und #42 (D).

3.2.1.2 Wachstum und Entwicklung der Pflanzen

Für die Charakterisierung des Wachstumsverhaltens der Pflanzen wurden Bestimmungen der Sprosslängen sowie der Blattanzahl und -flächen zu verschiedenen Zeitpunkten (alle 3 bis 4 Tage) im Laufe der Ontogenese der Pflanzen durchgeführt. Die Zunahme der Sprosslänge ist ebenso ein geeignetes Maß für das Wachstum höherer Pflanzen (MOHR und SCHOPFER, 1992) wie die Anzahl der gebildeten Blätter und deren Flächen-Ausdehnung.

Tabakpflanzen zeigen einen sigmoiden Verlauf des Wachstums (geringes Wachstum → starkes Wachstum → Abnahme des Wachstums → Endwert), welcher sich durch eine symmetrisch logistische Gleichung ([2], S. 16) beschreiben lässt. Die richtige Auswahl dieser Funktion zur Beschreibung des Wachstumsverlaufes von Tabak wird durch die sehr guten Korrelationskoeffizienten zwischen den Messwerten und den durch das mathematische Modell errechneten Werten bestätigt ($r^2 = 0.9946 - 0.9994$). Daraus ergaben sich für die Sprosslänge (H, in cm), für die Fläche aller Blätter (ΣAr , in cm^2) sowie für die Blattanzahl einer Pflanze (n) jeweils der maximale Wert nach Abschluss des Wachstums (max. y) sowie der Wert $((dy/dt)_{\max})$ und der Zeitpunkt (t von $(dy/dt)_{\max}$) für die maximale Wachstumsrate (Tab. 3).

Die transgenen Pflanzen zeigten entsprechend ihrem “abgestuften” Chl-Gehalt im Vergleich zum Wildtyp eine verzögerte Entwicklung (Abb. 7.1, 7.2, 8, 9). Ein geringeres Wachstum kann sich in einer Reduzierung des erreichten maximalen Wachstumsparameters am Ende der Ontogenese und/oder der relativen Wachstumsraten äußern. Bei den TF waren sowohl die ermittelten Endwerte der Sprosslängen um 13 - 63 % (Tab. 3, Abb. 8 oben) als auch die maximalen Wachstumsraten der Sprosse um 14 bis 84 % (Tab. 3, Abb. 8 unten) im Vergleich zur SNN reduziert. Auch bei dem Vergleich der unter LL mit den unter HL angezogenen Pflanzen ist das beobachtete verringerte Wachstum der LL-Pflanzen (Abb. 7.2) nicht nur auf die geringeren maximalen Sprosslängen (um 11 bis 49 %; Tab. 3, Abb. 8 oben), sondern insbesondere auch auf die niedrigeren maximalen Wachstumsraten (um 41 - 57 %; Tab. 3, Abb. 8 unten) zurückzuführen. Der Zeitpunkt, zu dem die maximale Wachstumsrate der Sprosslängen erreicht wurde (Tab. 3, Abb. 8 unten), zeigte im Vergleich der Licht- als auch der Chl-Tabak-Varianten eine Verzögerung um je bis zu 16 d.

Die gebildete Gesamtblattfläche pro transformierter Pflanze war v. a. in ihrer Zuwachsrate bis auf 70 % des WT unter HL und 15 % unter LL reduziert, dessen Maximum zudem zu einem späteren Zeitpunkt (um 15 bis 29 d) eintrat (Tab. 3, Abb. 9 unten). Der Wert der gesamten gebildeten Blattfläche aller Blätter scheint bei allen Tabakpflanzen unter HL- und beim WT unter LL-Bedingungen einen Maximalwert von ca. 4200 bis 4400 cm^2 anzustreben (Tab. 3, Abb. 9 oben). Ob dieses evtl. auch für die Transformanten unter Schwachlicht zutrifft, konnte nicht geklärt werden, da die Bildung von neuen Blättern dieser Pflanzen innerhalb des Ver-

suchszeitraumes noch nicht endgültig abgeschlossen war. Die mathematische Auswertung der erhaltenen Ergebnisse spricht jedoch für eine 37 bis 78 %ige Reduzierung der maximal erreichten Gesamt-Blattfläche in Abhängigkeit vom Chlorophyllgehalt. Sehr deutlich wird hier, dass mit sinkendem Chl-Gehalt die beeinträchtigende Wirkung von Lichtmangel auf das Blattflächenwachstum zunahm. So zeigten der WT und z. B. die #42 unter LL-Bedingungen eine maximale Gesamt-Blattfläche von 99.0 bzw. 27.3 % und eine maximale Zuwachsrate von 53.8 bzw. sogar nur noch 11.5 % im Vergleich zur entsprechenden HL-Variante (Tab. 3).

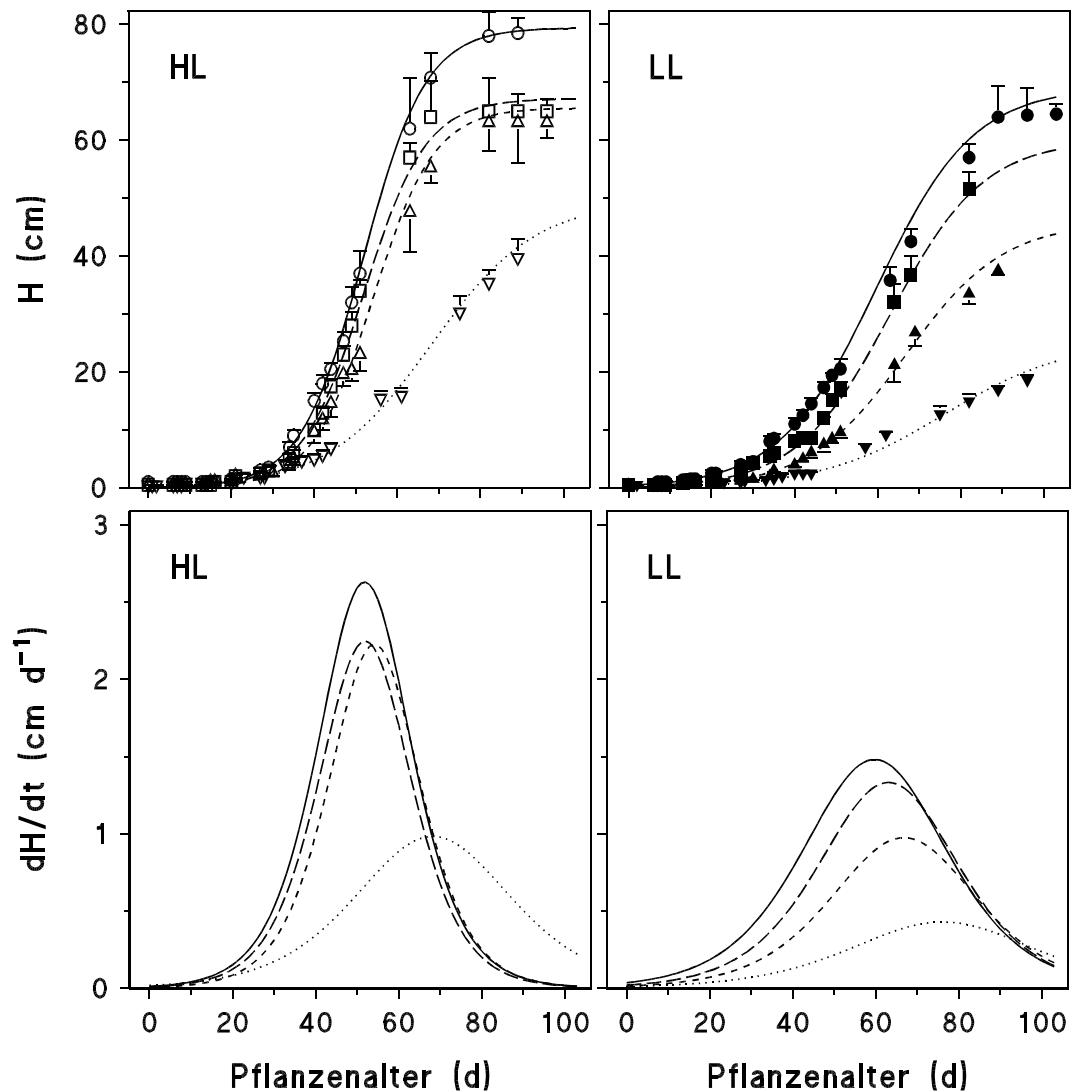


Abb. 8 Sprosslängen (H, oben; Messwerte und mathematische Modellierung) und Wachstumsraten der Sprosslängen (dH/dt, unten; mathematisches Modell) in Abhängigkeit vom Pflanzenalter von unter HL (links) und LL (rechts) angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 (Messwerte: $\bar{x} \pm s$, $n \geq 4$).



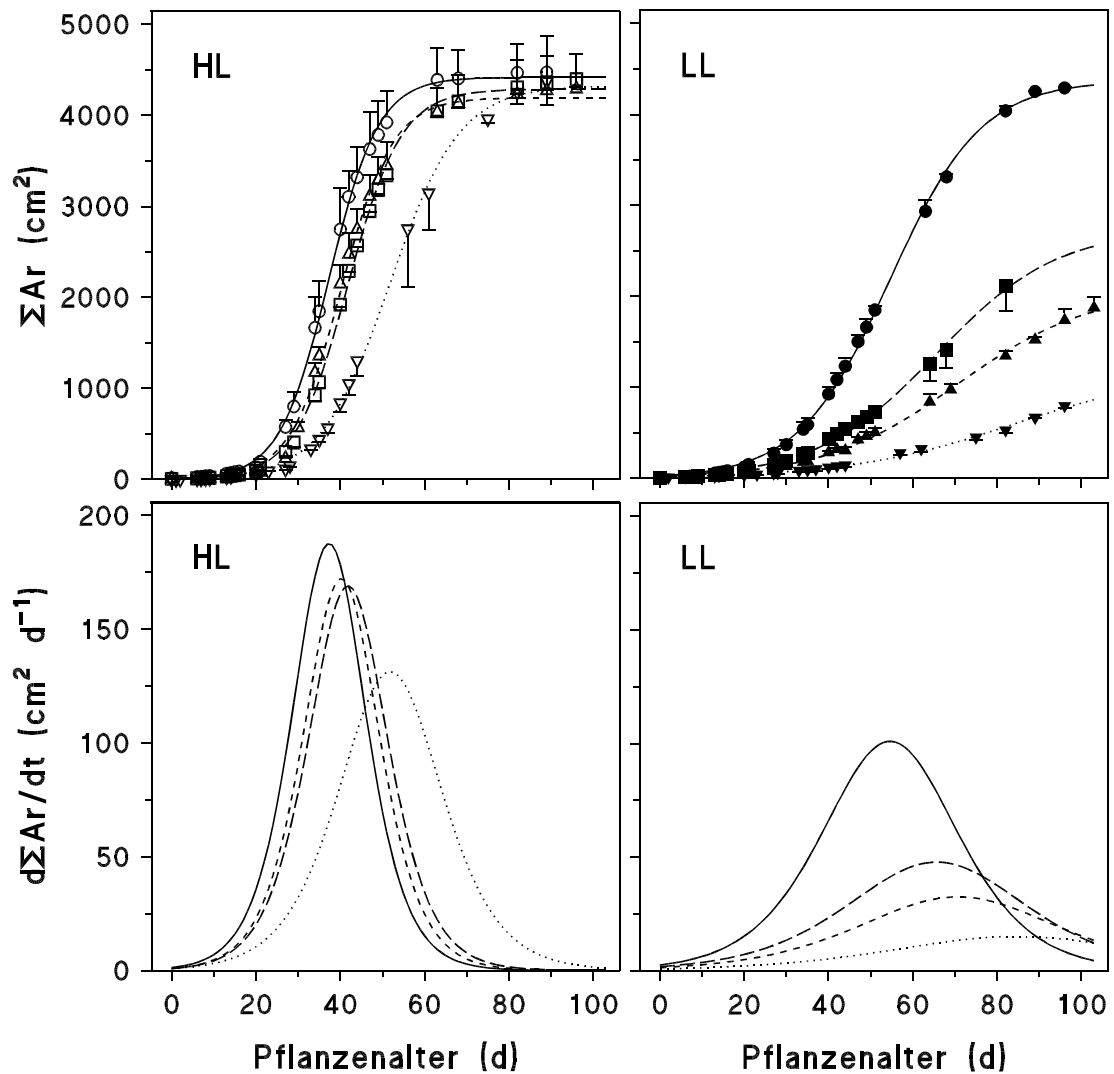
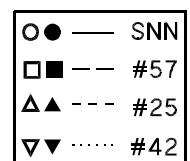


Abb. 9 Summe der Blattflächen aller Blätter einer Pflanze (ΣAr , oben; Messwerte und mathematische Modellierung) und Zuwachsraten der Gesamtblattflächen ($d\Sigma Ar/dt$, unten; mathematisches Modell) in Abhängigkeit vom Pflanzenalter von unter HL (links) und LL (rechts) angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 (Messwerte: $\bar{x} \pm s$, $n \geq 4$).



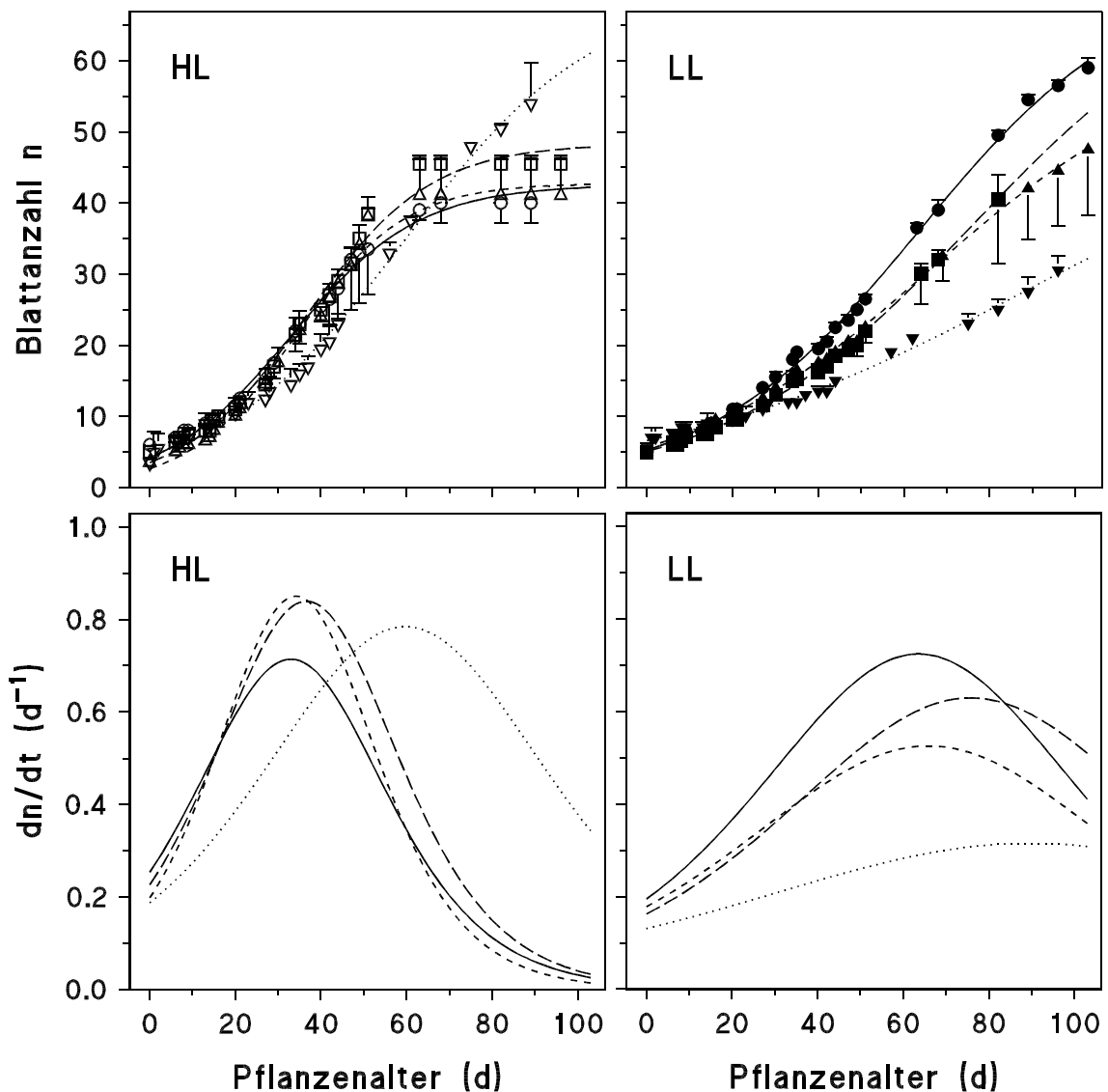
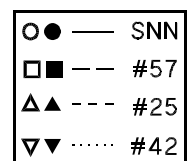


Abb. 10 Blattanzahl (n , oben; Messwerte und mathematische Modellierung) und Blattbildungsrate (dn/dt , unten; mathematisches Modell) in Abhängigkeit vom Pflanzenalter von unter HL (links) und LL (rechts) angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 (Messwerte: $\bar{x} \pm s$, $n \geq 4$).



Die Summe der Blattflächen aller gebildeten Blätter pro Pflanze hängt sowohl von der Blattausdehnung eines jeden Blattes als auch von der Anzahl der sich entwickelnden Blätter (Abb. 10) ab. Unter HL zeigten die TF eine gleiche (#25) bzw. erhöhte (#57, #42) maximale Blattanzahl (Tab. 3, Abb. 10 oben) mit einer um 10 - 20 % höheren Rate der Blattbildung (Tab. 3, Abb. 10 unten). Dagegen ist unter LL-Anzuchtbedingungen die Tendenz zu einer Reduzierung v. a. der Blattbildungsrate um 12.5 bis 56 %, aber auch der Gesamtzahl der gebildeten Blätter um maximal 22 % zu verzeichnen (Tab. 3, Abb. 10).

Eine Pflanze hat ihre Gesamt-Blattzahl endgültig erreicht, wenn die Bildung der Blütenknospen eintritt. Dieser Zeitpunkt war bei den HL-Pflanzen nach ca. 11 bis 13 Wochen erreicht. Alle LL-Varianten erreichten die Knospenbildung innerhalb der 103 d Versuchsdauer nicht.

Tab. 3 Endwerte nach Abschluss des Wachstums (max. y), maximale Wachstumsraten ($(dy/dt)_{\max}$) sowie Zeitpunkt der maximalen Wachstumsrate (t von $(dy/dt)_{\max}$) von Sprosslänge (H; in cm), Gesamtblattfläche pro Pflanze (ΣAr ; in cm^2) sowie Blattanzahl pro Pflanze (n) von unter HL und LL angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42. Die Werte wurden lt. Gleichungen [2] bis [4] (Kap. 2.2.2) aus den jeweiligen Mittelwerten (s. Abb. 8, 9, 10) errechnet.

Variante		Sprosslänge (H)			Ges.-Blattfläche (ΣAr)			Blattanzahl (n)		
		max. H	$(dH/dt)_{\max}$	t von $(dH/dt)_{\max}$	max. ΣAr	$(d\Sigma Ar/dt)_{\max}$	t von $(d\Sigma Ar/dt)_{\max}$	max. n	$(dn/dt)_{\max}$	t von $(dn/dt)_{\max}$
		(cm)	(cm d^{-1})	(d)	(cm^2)	($\text{cm}^2 \text{ d}^{-1}$)	(d)		(d^{-1})	(d)
HL	SNN	79.4	2.63	52	4418	187.7	37	43	0.71	33
	#57	67.2	2.25	52	4288	169.1	42	48	0.84	37
	#25	65.6	2.23	54	4195	172.3	40	43	0.85	34
	#42	49.5	0.98	68	4327	131.4	52	70	0.78	60
LL	SNN	69.1	1.48	60	4373	101.0	55	72	0.72	64
	#57	60.0	1.33	63	2739	47.9	66	73	0.63	76
	#25	45.9	0.97	67	2076	32.5	71	61	0.53	66
	#42	25.4	0.43	76	1205	15.2	84	56	0.32	90

3.2.2 CHARAKTERISIERUNG DER BLÄTTER

Nachdem bisher die Entwicklung der Gesamtpflanze im Mittelpunkt der Untersuchungen stand, werden ab jetzt einzelne vergleichbare Blätter betrachtet. Die Befunde der morphologischen Studien (Kap. 3.2.1) und der CO_2 -Gaswechsel-Messungen im Laufe der Blatt- und Pflanzenentwicklung (Kap. 3.4.1) erlaubten, die für die geplanten Messreihen relevanten vergleichbaren Blätter von vergleichbaren Pflanzen auszuwählen. Als Grundlage diente dazu nicht das kalendarische Alter der Blätter bzw. Pflanzen, sondern das ontogenetische. Vor allem bei einem Vergleich von physiologischen Parametern in unter verschiedenen Lichtintensitäten angezogenen Pflanzen führt ein Vergleich nach dem kalendarischen Alter aufgrund der unterschiedlichen Entwicklungsdauer (Tab. 3, Abb. 8, 9, 10, 12) zwangsläufig zu Artefakten (s. dazu WILD und HÖHLER, 1978; LONGSTRETH *et al.*, 1981; LICHTENTHALER *et al.*, 1981; RÜHLE und WILD, 1985; NIKOLAEVA, 1994; GALL *et al.*, 1996).

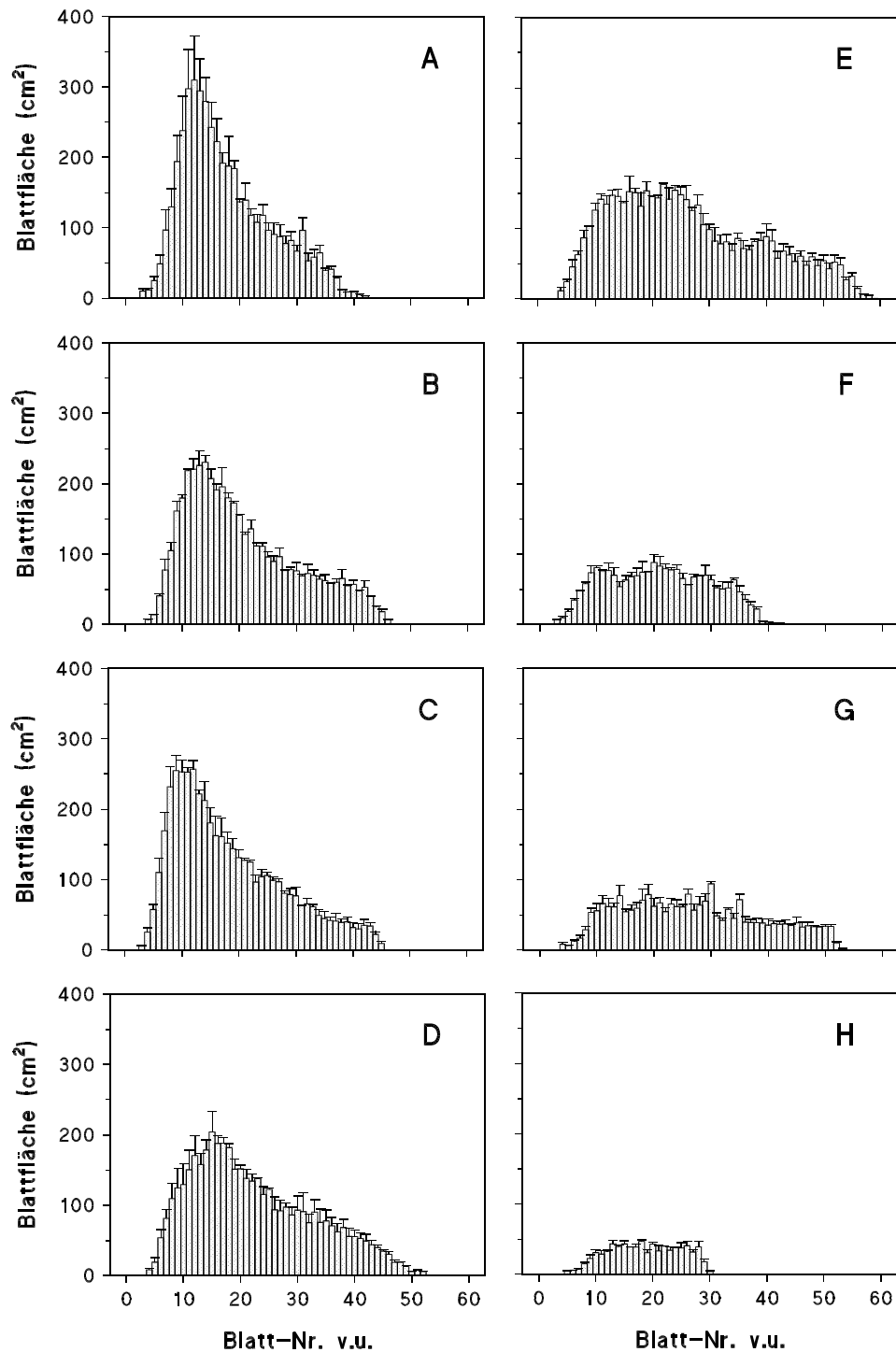


Abb. 11 Blattflächen der ausgewachsenen Blätter (cm²) von unter HL (links; A - D) und LL (rechts; E - H) angezogenen Tabakpflanzen der SNN (A, E), #57 (B, F), #25 (C, G) und #42 (D, H) ($\bar{x} + s$, $n \geq 4$).

So kamen für sämtliche im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen Pflanzen zum Einsatz, die sich nach ca. 40 bis 65 Tagen nach Pikieren im 22- bis 26-Blatt-Stadium (Tab. 1) und sich damit ungefähr am Zeitpunkt der maximalen Zuwachsrates (Tab. 3) befanden. Davon wurde dann das 8. bis 12. Blatt - von der Pflanzenspitze aus gezählt - für die Versuche verwendet. Diese Blätter entsprachen dem 10. bis 18. Blatt von unten (Bl. v.u.), zeigten im Vergleich zu den anderen Blättern höhere Wachstumsraten und erreichten die größten Endblattflächen je Pflanze (Abb. 11). Sie hatten zum Zeitpunkt der Probenahme bzw. Messung ihr Flächenwachstum zu ca. 70 bis 95 % abgeschlossen und waren damit, nach den Kriterien von FISCHER (1999), sicher als "vollaktive" (s. Kap. 3.4.1) *source*-Blätter ohne Seneszenz-Erscheinungen einzuordnen.

3.2.2.1 Wachstum und Entwicklung der Blätter

Die nach o. g. Kriterien ausgewählten Blätter zeigten sowohl bei den TF im Vergleich zum WT als auch bei den Schwachlicht- im Vergleich zu den Starklichtpflanzen ein reduziertes Blattspaltenwachstum. Ausdruck dafür waren einerseits die verminderten maximalen Blattflächen am Ende der Blattentwicklung (Abb. 11, 12 oben, Tab. 4) und andererseits die reduzierten maximalen Blattflächen-Zuwachsrates (Abb. 12 unten, Tab. 4). So waren die Blätter

Tab. 4 End-Blattflächen nach Abschluss des Wachstums (max. Ar, in cm²), maximale Wachstumsraten ((dAr/dt)_{max}) sowie Zeitpunkt der maximalen Blattflächen-Wachstumsrate (t von (dAr/dt)_{max}) der Blätter von unter HL und LL angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42. Die Werte wurden lt. Gleichungen [2] bis [4] (Kap. 2.2.2) aus den Mittelwerten (s. Abb. 12) errechnet.

Variante		max. Ar (cm ²)	(dAr/dt) _{max} (cm ² d ⁻¹)	t von (dAr/dt) _{max} (d)
HL	SNN	214	27.3	10
	#57	202	27.1	10
	#25	207	27.8	10
	#42	156	18.9	10
LL	SNN	136	14.6	12
	#57	68	6.5	12
	#25	79	7.4	13
	#42	37	2.6	11

der Chl-ärmsten Pflanzen um 27 % (HL) bzw. 73 % (LL) kleiner und ihre maximale Zuwachsrate war um 31 % (HL) bzw. 82 % (LL) geringer als die der SNN. Jedoch gab es keinen Unterschied in der Entwicklungsdauer der Blätter zwischen den TF und dem WT. Alle untersuchten Blätter erreichten ihre maximale Zuwachsrate durchschnittlich nach 10 (HL) bzw. 12 d (LL) (Tab. 4) und ihre endgültige Spreitenausdehnung nach 33 (9 d (HL, n = 238) bzw. 38 (10 d (LL, n = 144). Unter Schwachlicht betrug die endgültige Flächenausdehnung der Blätter 1/4 bis 2/3 derer unter Starklicht, die maximale Wachstumsrate der Blattspreiten lag sogar nur bei 14 bis 54 % der HL-Werte (Tab. 4).

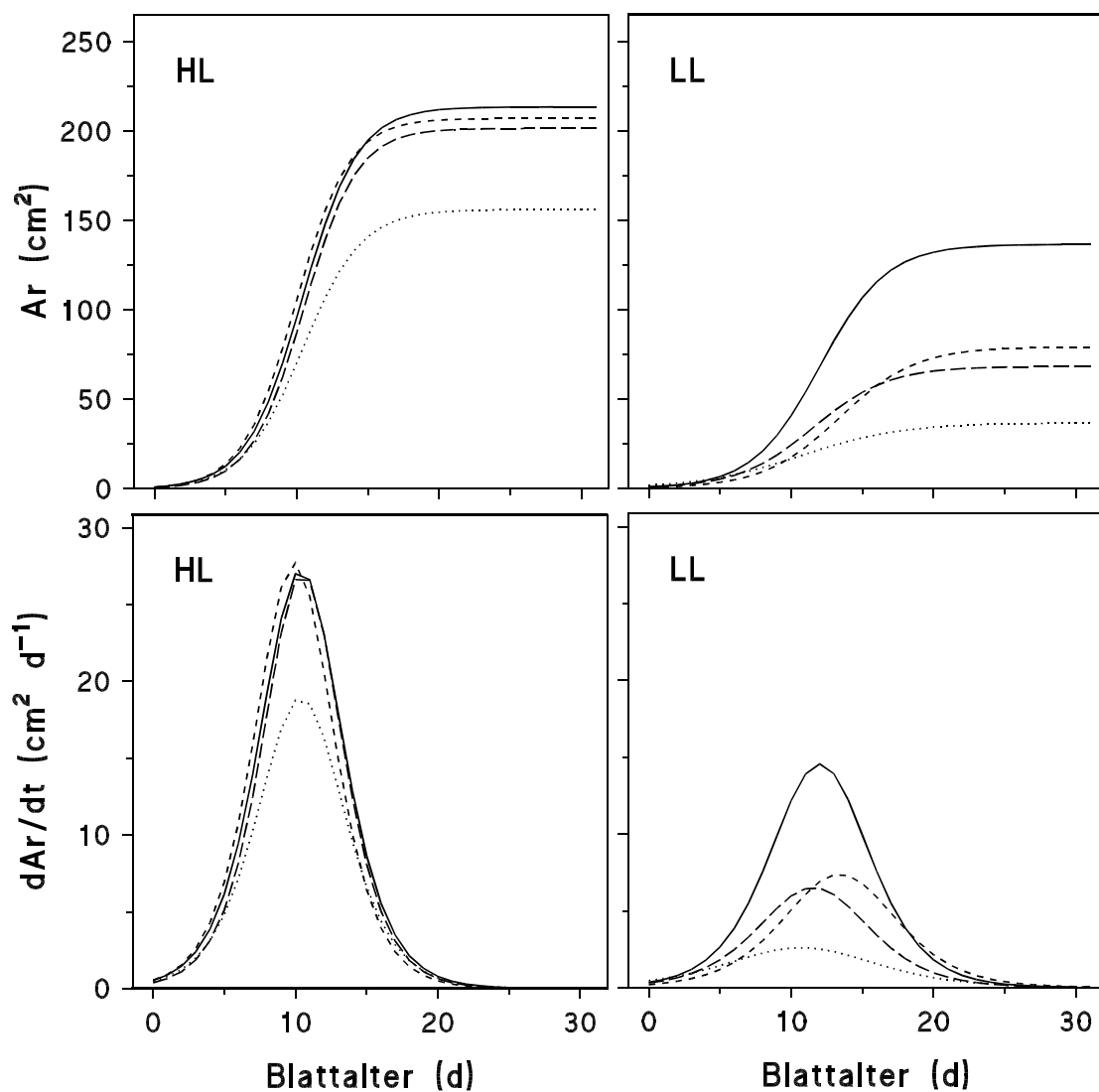
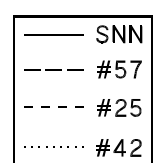


Abb. 12 Blattflächen (Ar , oben) und Zuwachsraten (dAr/dt , unten) (mathematisches Modell) der Blätter in Abhängigkeit vom Blattalter von unter HL (links) und LL (rechts) angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 (\bar{x} aus Modellkurven von $n \geq 18$ Blättern).



Die für diese Arbeit ausgewählten ontogenetisch vergleichbaren Blätter wurden zum Zeitpunkt der Probenahme bzw. Messung hinsichtlich der akkumulierten Biomasse, d. h. auf ihre spezifischen Frisch- und Trockenmassen (mg cm^{-2}) untersucht. Dies geschah unmittelbar nach der Probenahme innerhalb einer begrenzten Zeitspanne der Lichtperiode (ca. 5 - 7 h nach Beginn der Lichtphase). Vor allem für die Bestimmung der Trockenmassen war aufgrund der Akkumulation transienter Stärke in den Blättern während der Lichtphase (s. Kap. 3.6.1; Fischer, 1999) eine enge Zeitbegrenzung der Bestimmung notwendig.

Tab. 5 Spezifische Frisch- (spez. FM) und Trockenmassen (spez. TM) (in mg cm^{-2}) sowie der daraus ermittelte relative Wassergehalt (rel. H_2O , in % der FM) in Blättern von unter HL und LL angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} \pm s$, $n = 44 - 86$). Der t-Test wurde für den Vergleich der TF zum WT (I) sowie den Vergleich der LL- mit den HL-Varianten (II) durchgeführt.

Variante		spez. FM (mg cm^{-2})	t-Test I II		spez. TM (mg cm^{-2})	t-Test I II		rel. H_2O (%)	t-Test I II	
HL	SNN	25.52 ± 2.32			2.58 ± 0.38			89.6 ± 3.5		
	#57	23.63 ± 1.72	+++		2.28 ± 0.33	+++		90.2 ± 1.3	–	
	#25	24.99 ± 1.58	–		2.64 ± 0.57	–		89.0 ± 4.1	–	
	#42	20.63 ± 1.64	+++		0.96 ± 0.10	+++		95.4 ± 0.6	+++	
LL	SNN	18.02 ± 1.98		+++	0.82 ± 0.11		+++	95.3 ± 0.7		+++
	#57	17.62 ± 1.59	–	+++	0.82 ± 0.12	–	+++	95.3 ± 0.8	–	+++
	#25	16.42 ± 1.00	+++	+++	0.80 ± 0.10	–	+++	95.1 ± 0.8	–	+++
	#42	16.39 ± 1.02	+++	+++	0.63 ± 0.09	+++	+++	96.4 ± 0.7	+++	+++

Es ist zu beobachten, dass die Menge an Chlorophyll wenig mit der auf die pro Fläche gebildeten Frischmasse korrelierte (Tab. 5). Lediglich bei stark reduziertem Chl-Gehalt in den Blättern der #42 war eine Verringerung der spezifischen FM sowohl unter HL (um 20 %) als auch unter LL (um 9 %) zu verzeichnen. Unter Schwachlicht akkumulierten alle Varianten ca. 20 - 35 % weniger Frischmasse als die entsprechenden HL-Pflanzen, wobei bei der #42 aufgrund der erkennbaren reduzierten spez. FM unter Starklichtbedingungen der Unterschied zwischen HL- und LL-Anzucht am geringsten war (Tab. 5).

Ähnlich wie bei der spez. FM, war eine Verringerung der TM pro Blattfläche erst bei einem stark reduzierten Chl-Gehalt (#42) zu beobachten (Tab. 5). Unter HL-Bedingungen war diese niedrigere spez. TM der #42 gegenüber den SNN-Pflanzen stärker ausgeprägt (37 % vom WT) als unter LL-Bedingungen (76 % vom WT). Daraus resultierte, dass der Unterschied zwischen den Pflanzen gleicher Transformation unter verschiedenen Anzucht-PPFD's bei der #42 zwar ebenfalls signifikant, doch nicht so stark ausgeprägt war wie bei den Pflanzen der #25, #57 und der SNN (Tab. 5).

Aus den ermittelten spezifischen Trocken- und Frischmassen resultieren die in Tab. 5 dargestellten relativen Wassergehalte der Blätter. Hieraus geht hervor, dass die rel. H₂O-Gehalte in den Blättern des Wildtyps, der #57 und der #25 sowohl unter HL- als auch unter LL-Anzuchtbedingungen sich nicht unterschieden und nur die Blätter der #42 signifikant (mit $p < 0.001$) höhere relative Wassergehalte aufwiesen. In allen Varianten wird deutlich, dass die unter LL gewachsenen Blätter signifikant (mit $p < 0.001$) mehr Wasser pro FM enthielten als die der entsprechenden HL-Pflanzen (Tab. 5).

3.2.2.2 Stomata- und Epidermiszellanzahl

Die Blätter des Tabaks weisen eine hypoamphistomatische Struktur auf, d. h. es finden sich auf beiden Blattseiten Stomata, jedoch auf der Unterseite 1.8 - 1.9mal (HL) bzw. 1.9 - 2.1mal (LL) mehr als auf der Oberseite (Abb. 13). Die Stomata selbst sind dem anomocystischen (*Ranunculaceen*-)Typ zuzuordnen (WAGENITZ, 1996), d. h. sie sind von Epidermiszellen umgeben, die sich nicht von den benachbarten Zellen unterscheiden. Die Stomataanzahl auf der Blattober- und -unterseite ist sowohl unter HL- als auch unter LL-Anzuchtbedingungen bei den TF mit "nur geringer Chl-Defizienz" im Vergleich zum WT um das max. 1.3fache erhöht, wogegen die Blätter der stark chlorotischen #42 um bis zu 42 % weniger Stomata pro Fläche aufweisen (Abb. 13). Wenn die Pflanzen unter LL aufgezogen worden waren, bildeten sich im Vergleich zu den unter HL angezogenen Pflanzen 30 bis 65 % weniger Stomata auf beiden Blattseiten aus (Abb. 13). Es waren jedoch keine auffälligen Veränderungen in der Länge der Stomataporen sowie der Größe der Geleitzellen infolge von Licht- bzw. Chl-Mangel zu verzeichnen (o. Abb.). Der Stomataindex, d. h. die Zahl der Spaltöffnungen pro Anzahl Epidermiszellen, war auf der Blattunterseite der Tabakblätter höher als auf der Oberseite (Tab. 6). Zwischen SNN- und transgenen Pflanzen konnte auf beiden Blattseiten weder unter HL noch unter LL ein signifikanter Unterschied im Stomataindex gefunden werden (Tab. 6). Unter HL wurden im Mittel bei allen Tabak-Varianten eine Stomatazelle pro 3.7 (Oberseite) bzw. eine pro 3.4 Epidermiszellen (Unterseite) ausgebildet, wogegen unter LL sich dieses Verhältnis auf 1 : 5.3 (OS) bzw. 1 : 4.0 (US) signifikant veränderte (Tab. 6).

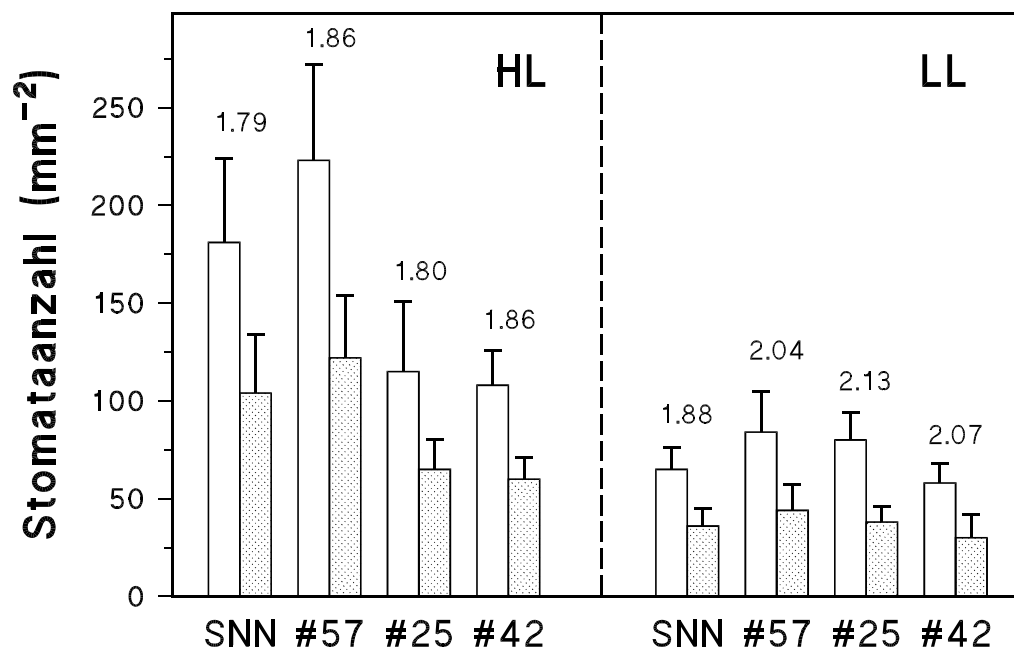


Abb. 13 Anzahl der Stomata pro mm² Blattunter- (□) sowie -oberseite (■) von Blättern von unter HL und LL angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} \pm s$, $n = 21 - 65$). Die Werte über den Balken geben das Verhältnis der Stomataanzahl von Blattunter-/oberseite an (\bar{x} ; $s = 19 - 25\%$).

Tab. 6 Stomataindex (Anzahl Stomata pro Anzahl Epidermiszellen) der Blattober- (OS) sowie -unterseite (US) von Blättern von unter HL und LL angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} \pm s$, $n = 21 - 65$). Der t-Test wurde für den Vergleich der TF zum WT (I), den Vergleich der LL- mit den HL-Varianten (II) sowie den Vergleich des Stomataindex von Ober- zu Unterseite (III) durchgeführt.

Variante		Stomataindex OS	t-Test I II		Stomataindex US	t-Test I II III		
HL	SNN	0.27 ± 0.06			0.29 ± 0.07			+
	#57	0.26 ± 0.05	–		0.31 ± 0.06	–		+++
	#25	0.29 ± 0.07	–		0.30 ± 0.06	–		–
	#42	0.26 ± 0.09	–		0.28 ± 0.07	–		–
LL	SNN	0.19 ± 0.07		+++	0.25 ± 0.09		++	+++
	#57	0.19 ± 0.05	–	+++	0.26 ± 0.04	–	+++	+++
	#25	0.18 ± 0.04	–	+++	0.24 ± 0.05	–	+++	+++
	#42	0.19 ± 0.08	–	+++	0.25 ± 0.06	–	–	++

3.2.2.3 Blatt-, Zell- und Chloroplastenstruktur

Für die Strukturanalysen wurden Proben von gerade auswachsenden (ca. 90 % der endgültigen Blattfläche) *source*-Blättern (9. Blatt von oben) von jeweils unter Stark- und Schwachlicht angezogenen Tabakpflanzen des WT und der extrem chl-defizienten #42 genommen. Leider reichte der Stichprobenumfang in den Untersuchungen zur Blatt-, Zell- und Chloroplastenstruktur mittels Licht- und Elektronenmikroskopie, bedingt durch den hohen Arbeits- und Zeitaufwand, nicht für eine statistische Auswertung aus.

In den Abb. 14 und 15 sind Blattquerschnitte (Abb. 14) und jeweils eine typische Palisadenparenchymzelle (Abb. 15) von Blättern des Wildtyps und #42 dargestellt. Es wird deutlich, dass die unter LL angezogenen Tabakpflanzen (Abb. 14C, 14D, 15C, 15D) eine geringere Blattdicke, eine verminderte Anzahl von Palisaden- und Schwammparenchymzellen und größere Interzellularräume aufwiesen als die HL-Varianten (Abb. 14A, 14B, 15A, 15B). Das Palisadenparenchym der HL-Blätter war einschichtig und dichter gepackt, während die LL-Blätter kleine, locker gepackte Palisadenzellen besaßen, die aufgrund ihrer “deformierten und runden” Form nicht immer leicht von den Schwammparenchymzellen zu unterscheiden sind (Abb. 14, 15). Im Vergleich der jeweils unter gleichen Lichtbedingungen angezogenen Pflanzen scheint nur unter HL die #42 (Abb. 14B, 15B) im Vergleich zur SNN (Abb. 14A, 15A) weniger, dafür aber größere und unregelmäßigere (v. a. im Palisadengewebe) Zellen sowie größere Interzellularräume zu besitzen, unter LL scheint dagegen kaum ein Unterschied zwischen WT und TF zu bestehen (Abb. 14C, 14D, 15C, 15D).

In den gelben Blättern der #42 finden sich unter beiden Lichtintensitäten kleinere und weniger Chloroplasten pro Zelle als in den grünen Geweben des Wildtyps (Abb. 15, 16). Schwachlicht-Bedingungen während der Anzucht bewirkten eine verminderte Anzahl von z. T. aber größeren (SNN) bzw. gleichgroßen (#42) Chloroplasten pro Zelle im Vergleich mit der entsprechenden HL-Variante (Abb. 15, 16.1, 16.2).

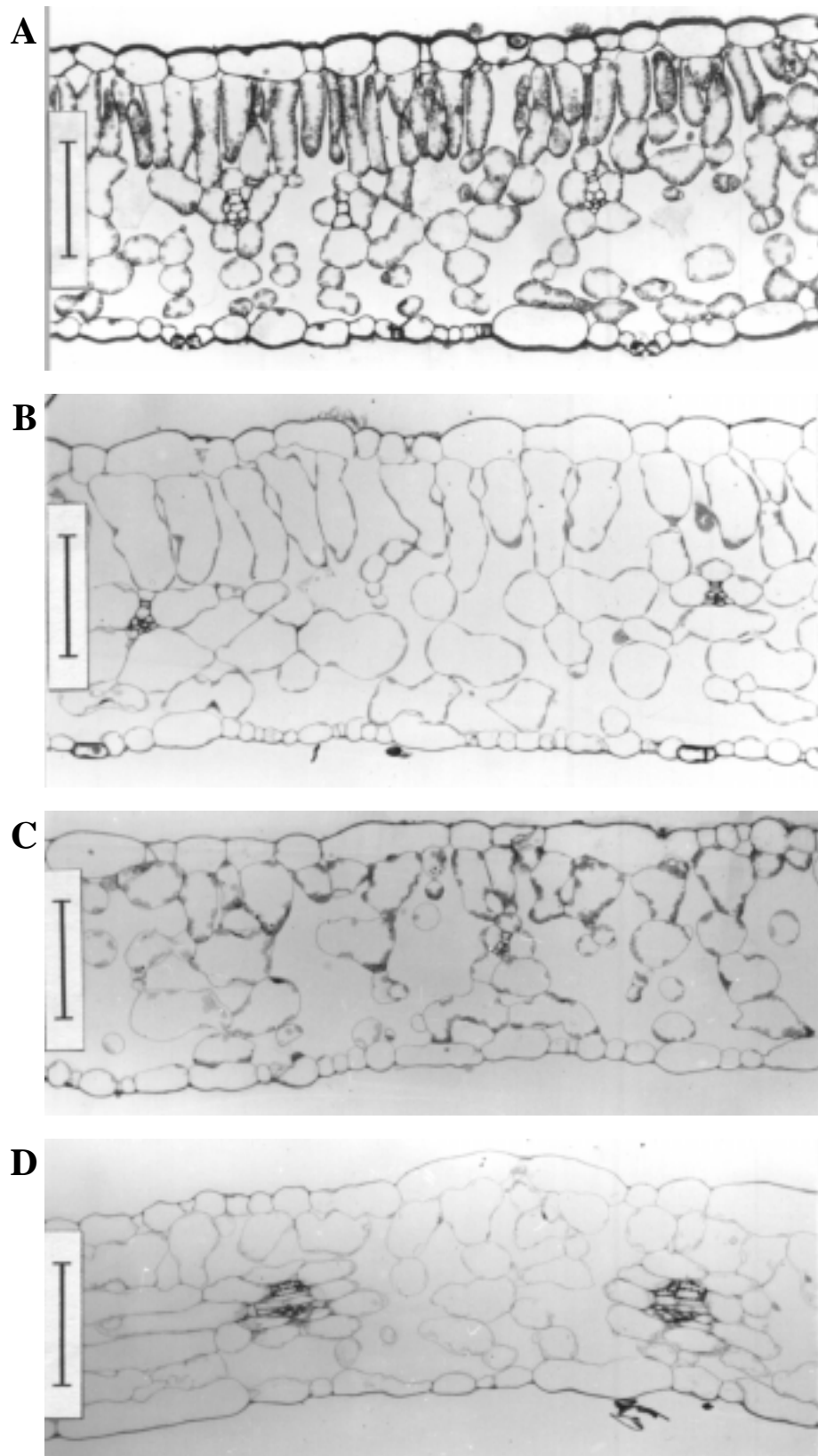


Abb. 14 Lichtmikroskopische Aufnahmen von Semidünnschnitten der Blattquerschnitte von unter HL (A, B) und LL (C, D) angezogenen Tabakpflanzen der SNN (A, C) und #42 (B, D). Der Balken entspricht 100 µm.

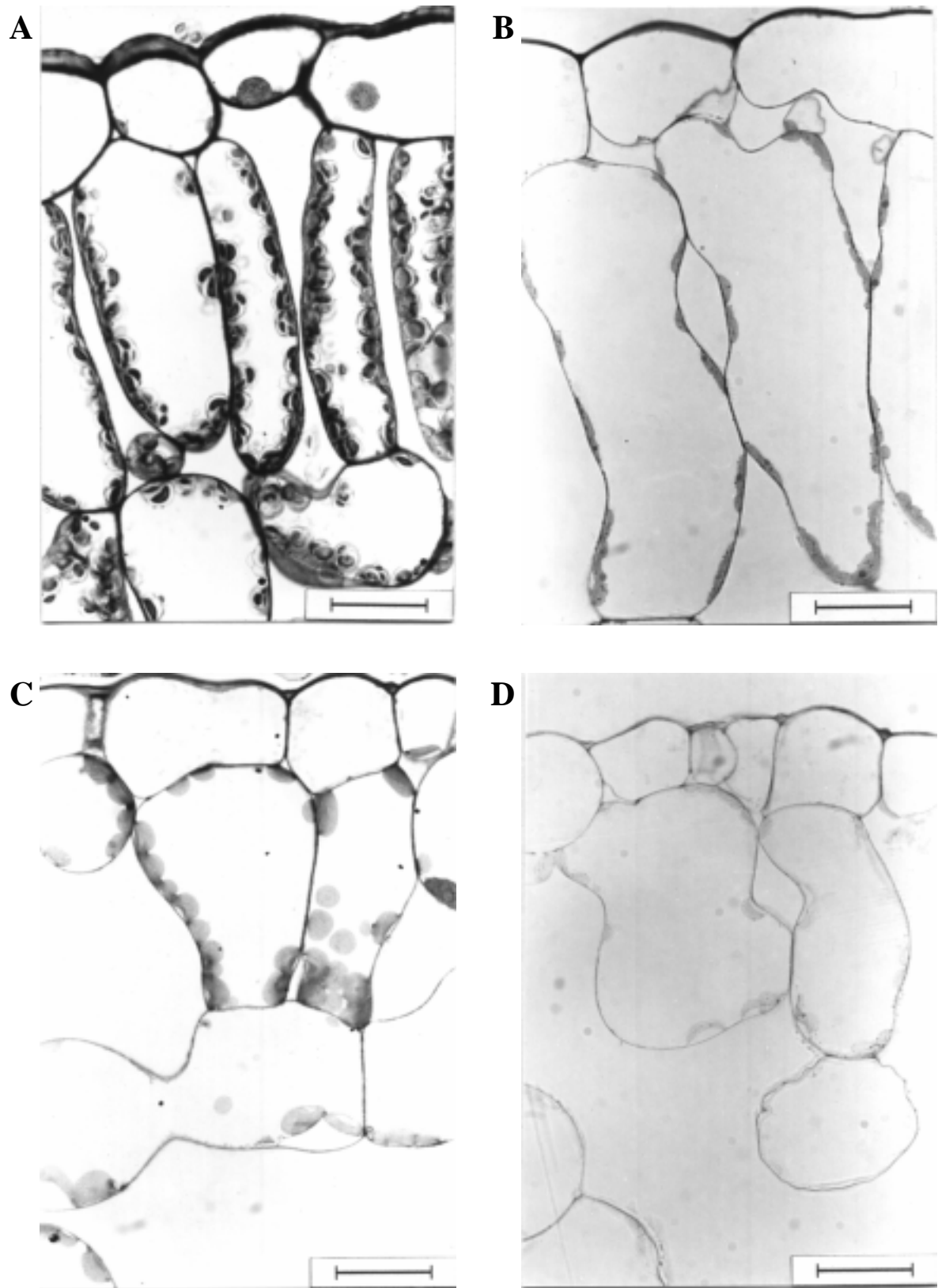


Abb. 15 Lichtmikroskopische Aufnahmen von Zellen aus dem Palisadenparenchym der Blätter von unter HL (A, B) und LL (C, D) angezogenen Tabakpflanzen der SNN (A, C) und #42 (B, D). Der Balken entspricht 20 μm.



Abb. 16.1 TEM-Aufnahmen von Chloroplasten aus Blättern von unter HL angezogenen Tabakpflanzen der SNN (A) und #42 (B). Der Balken entspricht 1 μm . (Pfeile siehe Text)

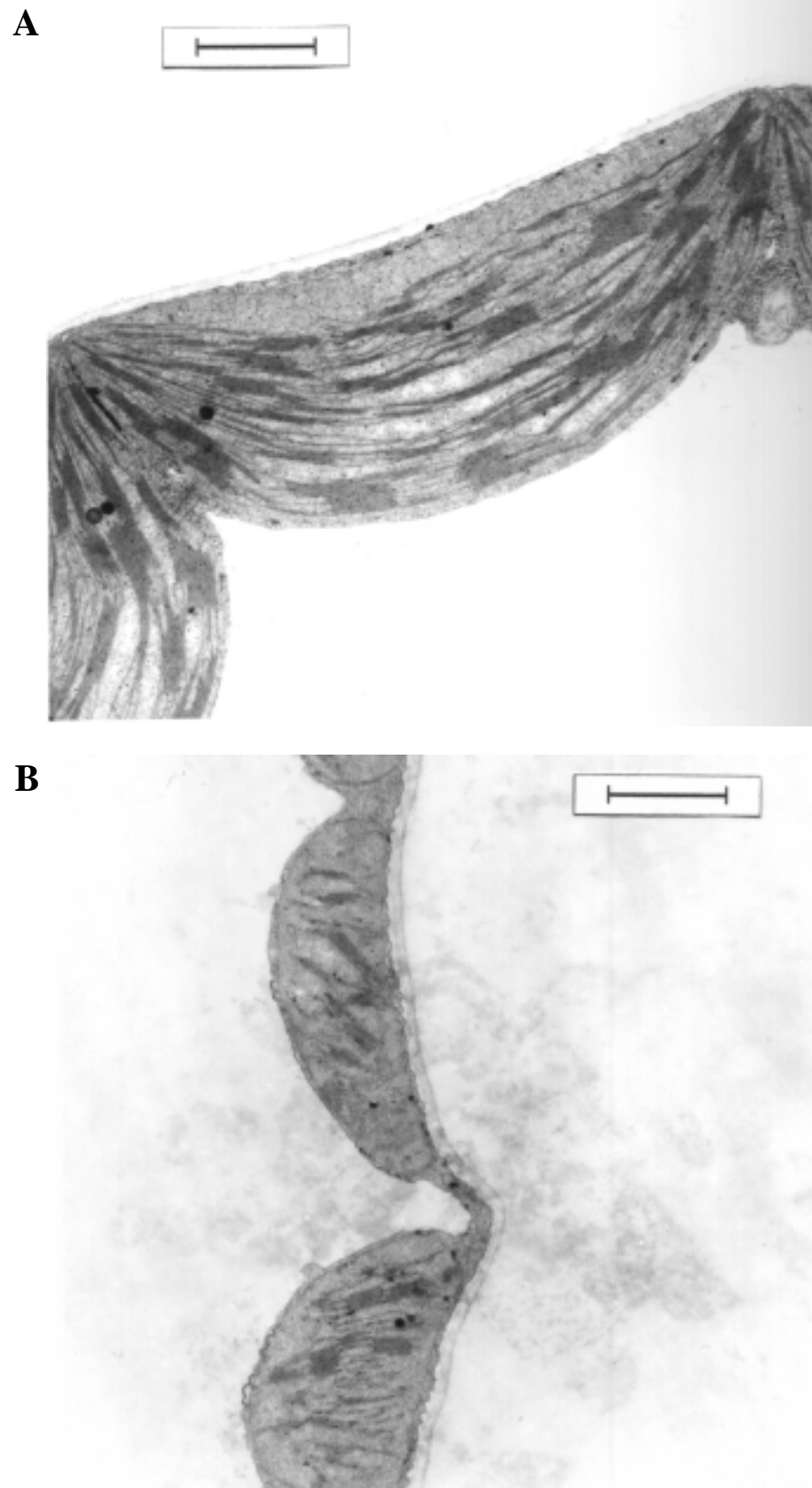


Abb. 16.2 TEM-Aufnahmen von Chloroplasten aus Blättern von unter LL angezogenen Tabakpflanzen der SNN (A) und #42 (B). Der Balken entspricht 1 μm.

Der niedrigere Chlorophyllgehalt in der #42 sowie die Anzucht unter verschiedenen Lichtbedingungen hatten einen deutlichen Einfluss auf die Struktur der Chloroplasten (Abb. 16). Der HL-Wildtyp besaß Chloroplasten mit gut ausgeprägten Stroma- und Granathylakoiden, wobei die Granathylakoide überwiegen und "schöne" Stapel ausbilden (Abb. 16.1 A). Schwachlicht schien das Verhältnis von Stroma- zu Granathylakoiden zugunsten der stromalen zu verschieben (Abb. 16.2 A). In den Blättern der #42 sind unter HL-Bedingungen lediglich Chloroplasten mit "Thylakoidfragmenten" (kurze stromale Thylakoide, keine Granabildung) zu finden (Abb. 16.1 B), während unter LL-Bedingungen zwar offensichtlich auch weniger Thylakoide als bei dem vergleichbaren Wildtyp, aber ein besser ausgebildetes Thylakoidsystem als bei der #42-HL zu sehen ist. Hier bestand das chloroplastidäre Membransystem aus wenigen kurzen Stroma- und niedrig gestapelten Granathylakoiden (Abb. 16.2 B). Interessant ist, dass in der Starklicht-Variante der #42 in Größe und Anzahl mehr Plastoglobuli, d. h. Tocopherole, Carotenoide und andere Substanzen enthaltende Lipidtröpfchen (LICHTENTHALER, 1968), vorhanden waren als in der #42-LL, SNN-HL und SNN-LL. Diese verweisen auf verstärkte Umbauprozesse der Membransysteme. Auch die teilweise deutlich zu sehende "Schwellung" der Thylakoide (Pfeile in Abb. 16.1 B) deutet auf veränderte Membraneigenschaften mit einem Wassereinstrom in die Thylakoidinnenräume und daraus resultierender Elektronentransparenz der hellen Bereiche hin (MIYAKE *et al.*, 1984).

3.3 LICHTABSORPTION DER BLÄTTER

Die durch die veränderten Chlorophyllgehalte sowie die verschiedene Belichtungsquantität verursachten Unterschiede der Blatt- und Chloroplastenstruktur der Tabak-Varianten (Kap. 3.2.2) lassen verschiedene Lichtabsorptionseigenschaften der Blätter erwarten. Mittels der in Kap. 2.2.13 beschriebenen Methode wurde die unter Anzuchtbedingungen absorbierte Menge an Quanten im photosynthetisch verwertbaren Wellenlängenbereich von 400 bis 700 nm für die Blätter der Tabakpflanzen ermittelt.

Wie Abb. 17 zeigt, nahmen die Pflanzen von dem Anzuchtlicht unter HL-Bedingungen 83 (SNN), 70 (#57), 57 (#25) bzw. 22 % (#42) der eingestrahnten $300 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ auf, unter LL-Bedingungen wurden 72, 57, 52 bzw. 26 % der angebotenen $30 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ absorbiert. In den LL-Pflanzen wird entsprechend dem um 90 % verringerten Lichtangebot 8.1 bis 11.5 % der durch die HL-Varianten absorbierten Photonenmenge aufgenommen (Abb. 17). Die Verringerung des Absorptionsvermögens der transgenen im Vergleich zu den Wildtyp- sowie der LL- im Vergleich zu den HL-Pflanzen ging mit einer Erhöhung sowohl des reflektierten als auch des transmittierten Anteiles des Lichtes einher (o. Abb.).

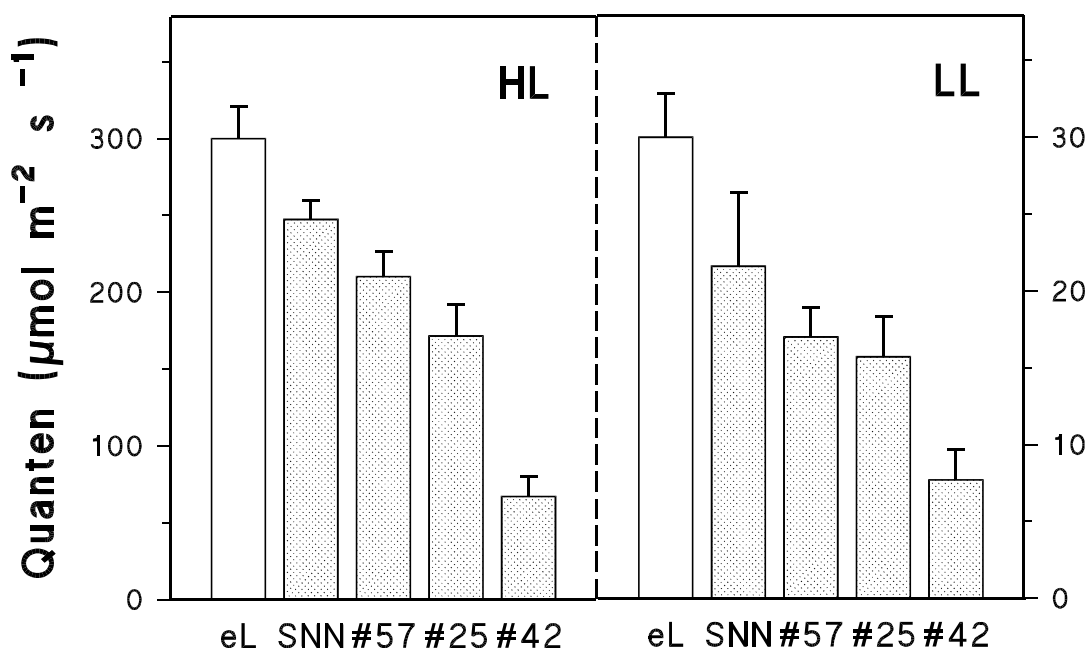


Abb. 17 Menge der im Wellenlängenbereich 400 - 700 nm eingestrahlten (eL) und absorbierten Quanten des Anzuchtlichtes (in $\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$) durch Blätter von unter HL (links) und LL (rechts) angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} + s$, $n = 6 - 8$). Man beachte die unterschiedliche Skalierung der y-Achsen für HL und LL!

3.4 CO₂- UND H₂O-GASWECHSEL DER BLÄTTER

3.4.1 CO₂-GASWECHSEL IM VERLAUFE DER ONTOGENESE EINES BLATTES

Am Anfang der Untersuchungen zum CO₂- und H₂O-Gaswechsel stand die Frage, wie sich die Netto-CO₂-Assimilationsleistung im Laufe der Blatt-Ontogenese ändert und inwieweit gemessene Unterschiede im Gaswechsel-Verhalten der verschiedenen Tabak-Varianten wirklich auf die Transformation bzw. Lichtquantität zurückzuführen sind und nicht durch altersbedingte Unterschiede der Blätter hervorgerufen wurden. Ziel war es, ontogenetisch vergleichbare Blätter für die nachfolgenden Untersuchungen zu ermitteln. Dafür wurden Gaswechselfmessungen an mehreren Blättern von verschiedenen Pflanzen der SNN und der #42 je unter HL und LL bis zum Abschluss ihres Blattflächenwachstums vor Beginn der Seneszenz durchgeführt.

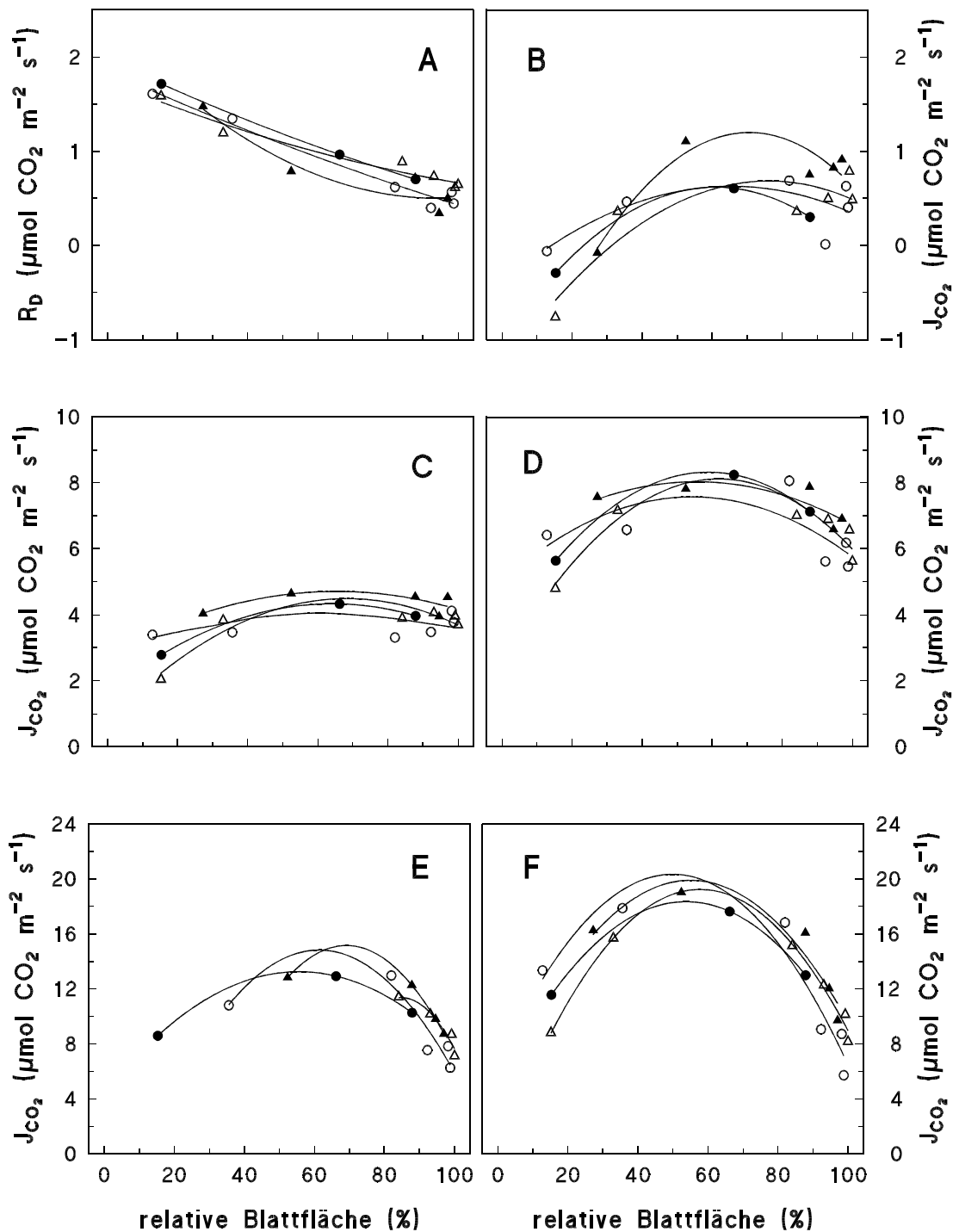


Abb. 18 Dunkelrespirations- (R_D , A) und Netto-Assimilationsraten (J_{CO_2}) bei 30 (B), 150 (C), 300 (D), 600 (E) und 1800 $\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ Mess-PPFD in Abhängigkeit von der relativen Blattfläche (die maximal erreichte Blattfläche nach Beendigung des Flächenwachstums = 100 %) von Blättern von unter HL angezogenen Wildtyp-Tabakpflanzen ($n = 4$; für jedes Blatt steht 1 Symbol).

In Abb. 18 sind am Beispiel der SNN-HL die Netto-CO₂-Umsatzraten im Verlauf der Blattontogenese dargestellt. Die Dunkelrespirationsrate fiel während des gesamten Blattflächenwachstums ab (Abb. 18A), während die CO₂-Assimilationsraten je nach Mess-Lichtintensität ein mehr oder weniger stark ausgeprägtes Maximum bei 55 - 70 % der endgültigen Blattfläche zeigten (Abb. 18 B - F). Ein ähnliches, doch aufgrund der geringeren absoluten Werte nicht so stark ausgeprägtes Bild war auch bei den Blättern der Varianten SNN-LL, #42-HL und #42-LL zu beobachten (o. Abb.). Aus diesem gleichartigen Verlauf der CO₂-Assimilation in Bezug auf die ontogenetische Blattentwicklung folgt, dass zu jedem relativen Zeitpunkt des Flächenwachstums der Tabakblätter die Unterschiede zwischen den Varianten wirklich durch den Licht- bzw. Chlorophyll-Mangel und nicht altersbedingt waren. Aufgrund des sigmoiden Verlaufes des Blattflächenwachstums (Abb. 12) und der unterschiedlichen maximalen Flächen der einzelnen Blätter (Abb. 11) war die Auswahl von Blättern mit einer maximalen Photosyntheseleistung (Abb. 18), d. h. zum Zeitpunkt von 50 % relativer Blattfläche, sehr schwierig. Deshalb wurden die Gaswechsel-Messungen, ebenso wie alle anderen Untersuchungen, an Blättern mit ca. 70 - 95 % ihrer endgültigen Blattfläche durchgeführt, das entsprach den ausgewählten Blättern (ca. 8. bis 12. Blatt von oben) im gewählten ontogenetischen Alter der Pflanzen (22- bis 26-Blatt-Stadium) (s. Kap. 3.2.2).

3.4.2 CO₂- UND H₂O-GASWECHSEL IN ABHÄNGIGKEIT VON MESS- UND ANZUCHT-LICHTINTENSITÄT

3.4.2.1 Lichtabhängigkeit von Parametern des CO₂- und H₂O-Gaswechsels

In den vorangegangenen Kapiteln wurde gezeigt, welche Auswirkungen sowohl der Chlorophyllgehalt als auch die Lichtquantität während der Anzucht auf das Absorptions- sowie das Wachstumsverhalten der Pflanzen hatten. Damit stellte sich die Frage, inwieweit diese Veränderungen sich in gleichem Maße im Prozess der CO₂-Assimilation, der eine unmittelbare Voraussetzung für das Wachstum darstellt, wiederfinden.

Zu diesem Zweck wurden von allen Tabak-Varianten Lichtsättigungskurven der CO₂-Austauschraten aufgenommen (Abb. 19). Zur Modellierung dieser Kurven wurde die in Kap. 2.2.4.1 dargestellte Exponentialgleichung [5] verwendet. Die richtige Auswahl dieser Funktion für den lichtabhängigen Verlauf von J_{CO₂} der Tabakblätter bestätigt sich durch die sehr hohe Korrelation ($r^2 = 0.9950 - 0.9999$) zwischen den Messwerten und den Modelldaten bei allen Varianten. Schon bei niedrigen PPFD's zeichnet sich ab, dass die TF eine geringere CO₂-Assimilationsleistung hatten als der entsprechende WT. Nur die Pflanzen der #57 zeigten bis zu einer Lichtintensität von 150 (LL) bzw. 600 (HL) $\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ signifikant nicht unterschiedliche J_{CO₂}-Werte zum WT. Bei der höchsten Mess-Lichtintensität von 1800 μmol

Quanten $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ waren die Netto- CO_2 -Aufnahmeraten der Blätter der transgenen Pflanzen im Vergleich zu denen der SNN bis auf 21 (HL) bzw. 14 % (LL) niedriger. Die unter HL angezogenen Pflanzen der SNN gingen erst bei sehr hohen PPFD's in den Bereich einer Lichtsättigung der CO_2 -Aufnahmerate über, die Assimilation der #42-LL war dagegen schon bei $150 \mu\text{mol}$ Quanten $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ gesättigt (Abb. 19; s. auch Kap. 3.4.2.2).

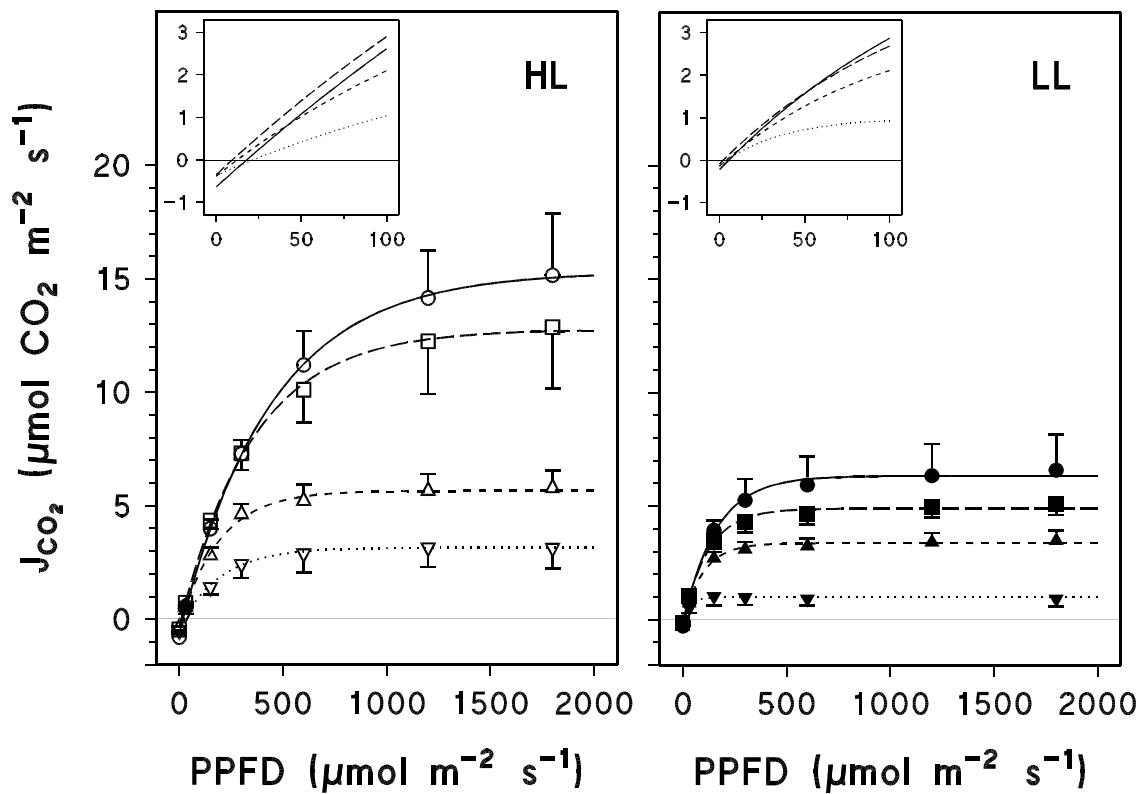
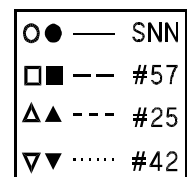


Abb. 19 Netto- CO_2 -Aufnahmeraten (J_{CO_2} ; in $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) in Abhängigkeit von der eingestrahltten Mess-Lichtintensität (PPFD) von Blättern von unter HL (links) und LL (rechts) angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} \pm s$, $n \geq 5$). Oben links ist jeweils ein Ausschnitt der Kurven in ihrer Anfangssteigung dargestellt.



Im Vergleich der unter den verschiedenen Lichtintensitäten angezogenen Pflanzen wird deutlich, dass alle LL-Pflanzen bei einer Mess-PPFD von $30 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (LL-Bedingungen) eine um 71 (SNN), 43 (#57), 39 (#25) bzw. 81 % (#42) höhere Netto- CO_2 -Aufnahmerate aufwiesen als die vergleichbaren HL-Varianten. Waren die PPFD's während der Messung größer als $30 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$, zeigten dagegen wieder die unter HL angezogenen Pflanzen die höheren J_{CO_2} -Werte, wobei diese unter $1800 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ das 1.7 bis 3.5fache der an den Blättern der entsprechenden LL-Pflanzen gemessenen Werte erreichten (Abb. 19).

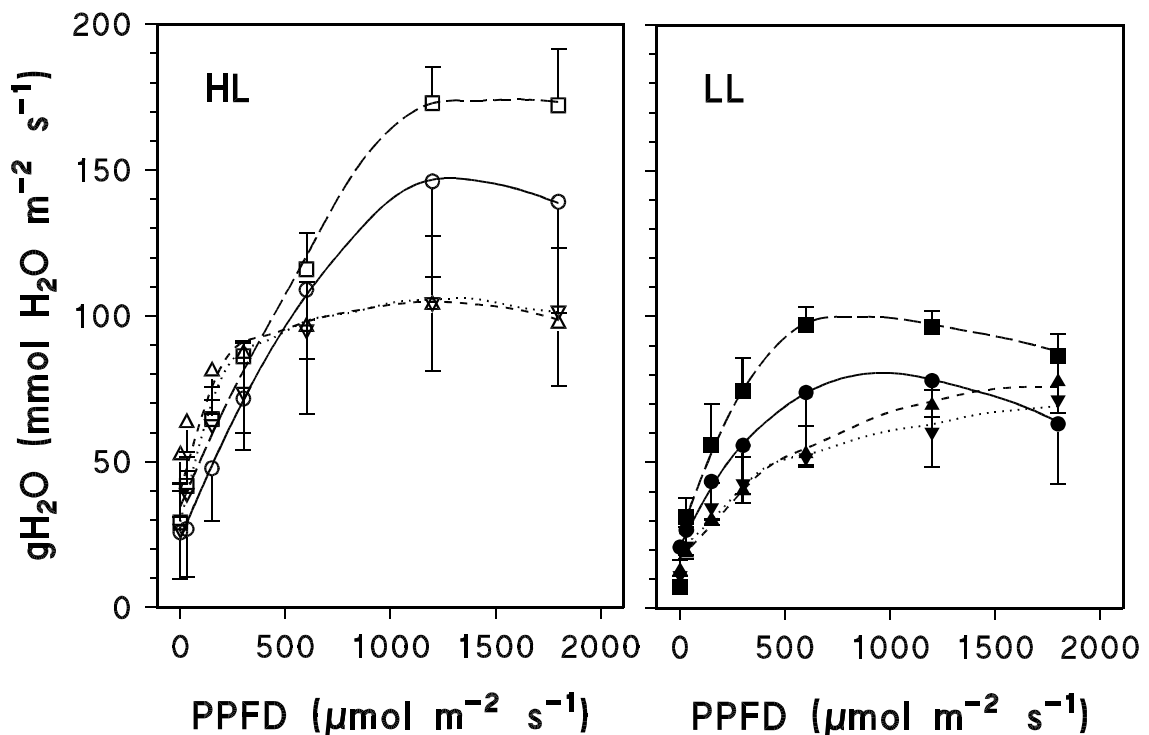
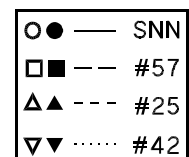


Abb. 20 Blattleitwert für Wasserdampf (gH_2O ; in $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) in Abhängigkeit von der eingestrahlichten Mess-Lichtintensität (PPFD) von Blättern von unter HL (links) und LL (rechts) angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} \pm s$, $n \geq 5$).



Parallel zu den Lichtsättigungskurven der Netto- CO_2 -Aufnahmeraten wurden aus den Gaswechsellmessungen ebenfalls Lichtabhängigkeitskurven des Blattleitwertes für Wasserdampf (gH_2O , Abb. 20), der CO_2 -Konzentration in den Mesophyll-Interzellularräumen (c_i , Abb. 21) sowie des Kehrwertes des *water use efficiency*, d. h. des Quotienten $J_{\text{H}_2\text{O}}/J_{\text{CO}_2}$ ($1/\text{WUE}$, Abb. 22) abgeleitet. Die gH_2O -Kurven der Tabakpflanzen zeigten alle einen Anstieg bis zu einer Beleuchtungsstärke von ca. 600 (LL, #25- und #42-HL) bzw. 1200 (SNN- und #57-HL) μmol

Quanten $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ und danach einen Plateauwert bzw. sogar ein leichtes Absinken der Werte. In den LL-Pflanzen waren diese Werte generell um bis zur Hälfte niedriger als in den HL-Pflanzen. Bei sättigender Strahlung lagen die Blattleitwerte für Wasserdampf in den Blättern der HL-Pflanzen zwischen 100 und 170 und diejenigen der LL-Pflanzen bei 63 - 87 $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Die Unterschiede zwischen den verschiedenen Tabak-Transformanten lassen keine eindeutige Tendenz erkennen. Die $g\text{H}_2\text{O}$ -Werte der #57 schienen im Vergleich zur SNN erhöht, die der #25 und #42 meist geringer zu sein (Abb. 20).

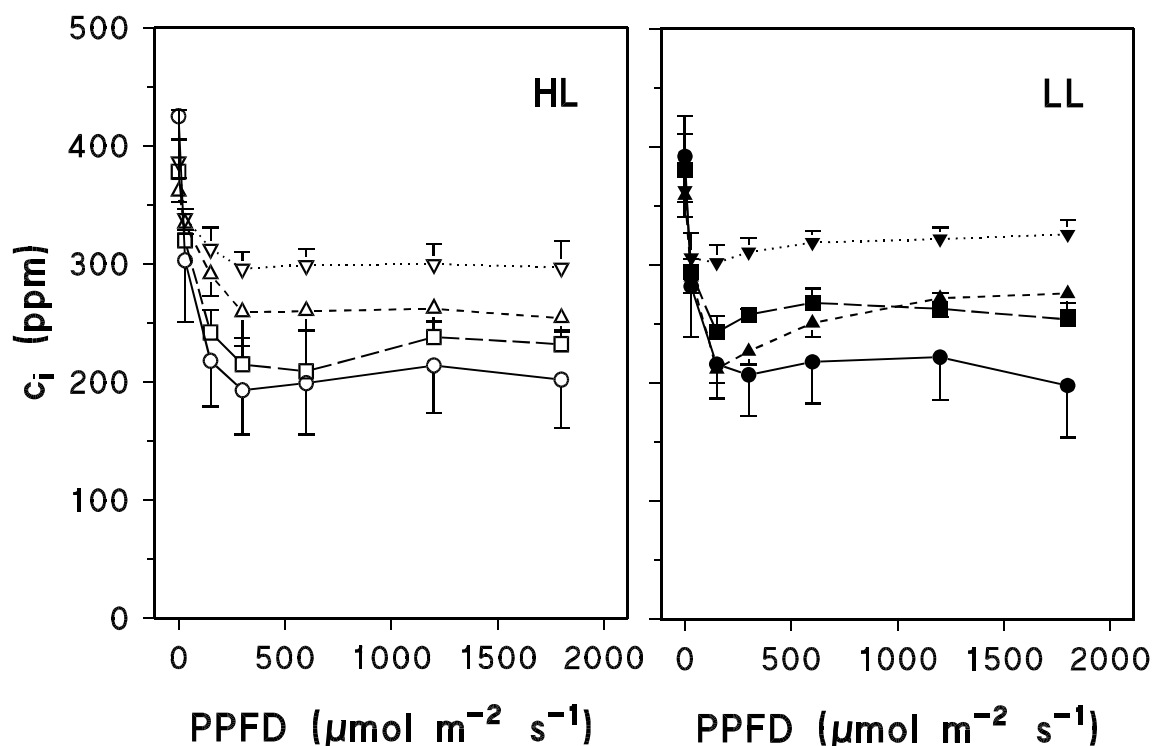
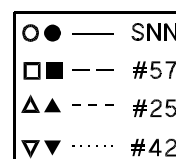


Abb. 21 CO_2 -Konzentration in den Interzellularen (c_i ; in ppm) in Abhängigkeit von der eingestrahnten Mess-Lichtintensität (PPFD) von Blättern von unter HL (links) und LL (rechts) angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} \pm s$, $n \geq 5$).



Die für die Tabakblätter ermittelte CO_2 -Konzentration der Luft in den Mesophyll-Interzellularen lag in dem für C_3 -Pflanzen unter nicht-limitierender Temperatur und Lichtstärke typischen Bereich von ca. 240 ppm (VON WILLERT *et al.*, 1995). Sie nahm unter beiden Lichtintensitäten vom WT über die #57 und #25 zur #42 hin bis auf das ca. 1.5fache (d. h. um bis zu 120 ppm) zu. In den LL-Blättern lagen die c_i -Werte im gleichen Bereich wie in den entsprechenden HL-Varianten, teilweise zeichnete sich die Tendenz zu leicht höheren Werten ab (Abb. 21).

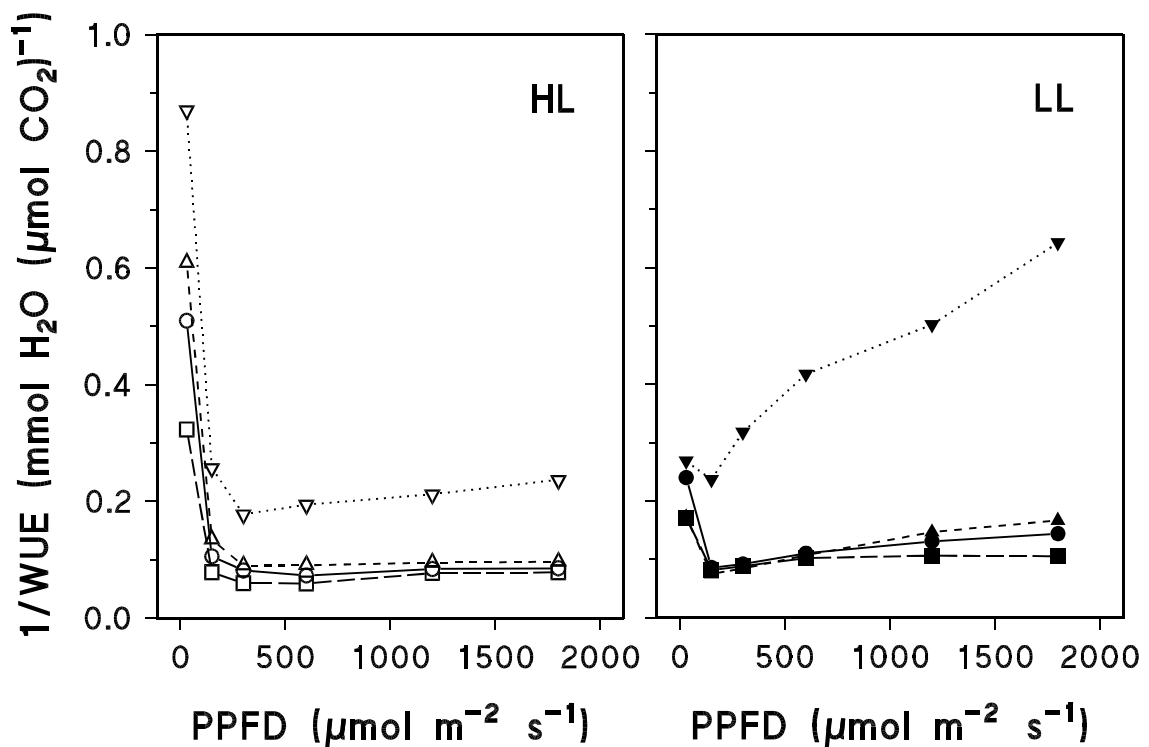
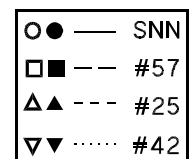


Abb. 22 Kehrwert des *water use efficiency* ($1/WUE$; J_{H_2O}/J_{CO_2} ; in $\text{mmol H}_2\text{O} (\mu\text{mol CO}_2)^{-1}$) in Abhängigkeit von der eingestrahltten Mess-Lichtintensität (PPFD) von Blättern von unter HL (links) und LL (rechts) angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42. Die Werte wurden aus den Mittelwerten der CO_2 - (J_{CO_2} ; Abb. 19) und H_2O -Austauschraten ($J_{\text{H}_2\text{O}}$; o. Abb.) berechnet.



Der Quotient $J_{\text{H}_2\text{O}}/J_{\text{CO}_2}$ ($1/WUE$) als ein Maß für die Effizienz des Wasserverbrauchs bei der Netto- CO_2 -Aufnahme war in den TF der #57 und #25 im Vergleich zur SNN kaum verändert und lag unter nichtlimitierenden Lichtbedingungen bei ca. 0.08 - 0.10 in den HL- bzw. 0.11 - 0.17 in den LL-Pflanzen. Bei den Blättern der #42 war dieser gegenüber dem am WT gemessenen Werten stark erhöht (bis 2.8fach unter HL und 4.5fach unter LL). Die LL-Pflanzen wiesen bei einer Mess-Lichtintensität von 30 und z. T. auch noch 150 $\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ niedrigere Mengen an transpirierten H_2O - pro assimilierten CO_2 -Molekülen auf, bei höheren Photonenflussdichten während der Messung lagen diese Werte bis zum 2.7fachen über denen der HL-Pflanzen (Abb. 22).

3.4.2.2 Abgeleitete Werte aus den Lichtabhängigkeitskurven der CO₂-Aufnahmeraten

Aus den Lichtabhängigkeitskurven der CO₂-Aufnahmerate lassen sich nach den in Kapitel 2.2.4.1 beschriebenen Gleichungen [6] bis [9] folgende Parameter ableiten:

- (1) die maximale CO₂-Aufnahmerate (max. J_{CO₂}),
- (2) der Lichtsättigungspunkt der CO₂-Assimilation (LSP), der nach SCHULZE (1970) als die PPFD definiert ist, bei der 90 % der maximalen CO₂-Aufnahmerate erreicht werden,
- (3) der Lichtkompensationspunkt (LKP), d. h. die photosynthetische Photonenflussdichte, bei der CO₂-Ein- und Ausstrom ausgeglichen sind,
- (4) die apparente Quantenausbeute (Φ_{app}), d. h. die Menge an aufgenommenen CO₂-Molekülen pro Anzahl auf das Blatt auftreffender Quanten im linearen Bereich der Lichtsättigungskurve. Unter Berücksichtigung der Lichtabsorption der Tabak-Varianten (Abb. 17) kann die reelle Quantenausbeute (Φ_{reell}), d. h. die Anzahl aufgenommener CO₂-Moleküle pro Anzahl tatsächlich absorbierter Quanten, berechnet werden.

Diese für die Tabak-Varianten ermittelten Werte sind in den Tab. 7 und 8 aufgeführt.

Tab. 7 Maximale CO₂-Aufnahmerate (max. J_{CO₂}; in μmol CO₂ m⁻² s⁻¹), Lichtsättigungspunkt (LSP; in μmol Quanten m⁻² s⁻¹) und Lichtkompensationspunkt (LKP; in μmol Quanten m⁻² s⁻¹) von Blättern von unter HL und LL angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} \pm s$, n ≥ 5). Der t-Test wurde für den Vergleich der TF zum WT (I) sowie den Vergleich der LL- mit den HL-Varianten (II) durchgeführt.

Variante		max. J _{CO₂} (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	t-Test I II		LSP (μmol Quanten m ⁻² s ⁻¹)	t-Test I II		LKP (μmol Quanten m ⁻² s ⁻¹)	t-Test I II	
HL	SNN	15.32 ± 2.76			1030 ± 153			17.8 ± 3.6		
	#57	12.77 ± 2.69	–		821 ± 76	+		9.4 ± 2.9	+++	
	#25	5.66 ± 0.76	+++		450 ± 56	+++		12.3 ± 2.6	+	
	#42	3.15 ± 0.92	+++		474 ± 32	+++		21.5 ± 3.3	++	
LL	SNN	6.33 ± 1.53		+++	367 ± 56		+++	5.4 ± 1.4		+++
	#57	4.90 ± 0.46	–	+++	286 ± 32	++	+++	2.2 ± 0.9	+++	++
	#25	3.37 ± 0.41	++	++	228 ± 41	+++	+++	4.0 ± 1.3	+	++
	#42	1.00 ± 0.34	+++	+++	87 ± 9	+++	+++	4.6 ± 2.6	–	+++

Die maximale CO₂-Aufnahmerate war in den TF gegenüber den SNN-Pflanzen graduell mit dem Chl-Gehalt verringert - unter HL um 17 (#57), 63 (#25) bzw. 79 % (#42) und unter LL um 23 (#57), 47 (#25) bzw. 84 % (#42). Unter LL zeigten die Tabakblätter maximale J_{CO₂}-Werte

Tab. 8 Apparente (Φ_{app} ; in mol aufgenommenes CO_2 (mol eingestrahlte Quanten) $^{-1}$) und reelle Quantenausbeute der CO_2 -Aufnahme (Φ_{reell} ; in mol aufgenommenes CO_2 (mol absorbierte Quanten) $^{-1}$) von Blättern von unter HL und LL angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} \pm s$, $n \geq 5$). Die Werte der absorbierten Quanten zur Berechnung von Φ_{reell} wurden aus Abb. 17 entnommen. Der t-Test wurde für den Vergleich der TF zum WT (I) sowie den Vergleich der LL- mit den HL-Varianten (II) durchgeführt.

Variante		Φ_{app} (mol CO_2 (mol Quanten) $^{-1}$)	t-Test I II		Φ_{reell} (mol CO_2 (mol Quanten) $^{-1}$)	t-Test I II	
HL	SNN	0.035 ± 0.006			0.042 ± 0.008		
	#57	0.036 ± 0.002	–		0.051 ± 0.003	+	
	#25	0.030 ± 0.004	+		0.052 ± 0.007	+	
	#42	0.016 ± 0.004	+++		0.072 ± 0.017	+++	
LL	SNN	0.040 ± 0.004		+	0.055 ± 0.006		+++
	#57	0.040 ± 0.005	–	–	0.070 ± 0.008	+++	++
	#25	0.035 ± 0.002	+	–	0.065 ± 0.004	+	+
	#42	0.028 ± 0.008	+++	+++	0.105 ± 0.032	+++	+++

von 32 - 60 % der der HL-Pflanzen (Tab. 7). Parallel zu den niedrigeren maximalen JCO_2 -Werten war sowohl in den TF im Vergleich zum WT als auch in den LL- im Vergleich zu den HL-Pflanzen eine Verschiebung der Lichtsättigung zu geringeren PPFD's hin zu beobachten. Während der HL-WT die Lichtsättigung bei $1030 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ erreichte, war das bei den HL-TF schon bei 821 bis $450 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ der Fall. Unter LL liegt der LSP des WT bei $367 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ und der der TF zwischen 286 und $87 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Tab. 7). Die für die Tabakblätter ermittelten Lichtsättigungswerte lagen in dem für krautige C_3 -Pflanzen typischen Bereich von $100 - 200 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Schattenpflanzen) bzw. $1000 - 1500 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Sonnenpflanzen) (LONG und HÄLLGREN, 1993; LARCHER, 1994). Diese für die einzelnen Varianten ermittelten LSP dienten als Grundlage für die Messung der Photorespirationsraten und der RSL unter sättigenden Lichtbedingungen (s. Tab. 2, Kap. 2.2.4). Als Lichtkompensationspunkte werden in der Literatur Werte von $5 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Schattenpflanzen) bzw. $20 - 40 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Sonnenpflanzen) angegeben (LARCHER, 1994). Der LKP der unter HL- bzw. LL angezogenen Pflanzen der #57 war um 47 bzw. 60 % und der #25 um 31 bzw. 27 % geringer als bei dem entsprechenden WT, wogegen die Blätter der #42 sogar einen um 1/5 höheren (HL) bzw. vom WT nicht verschiedenen LKP aufwiesen (LL). Die bei $30 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ kultivierten Pflanzen zeigten einen LKP, der bei 1/3 bis 1/5 des Wertes der bei der 10fachen Lichtintensität angezogenen Pflanzen lag (Tab. 7). Die ermittelten apparenten Quantenausbeuten (Tab. 8) entsprachen den in der Literatur für C_3 -Pflanzen angegebenen typischen Werten von ca. $0.05 \text{ mol CO}_2 (\text{mol Quanten})^{-1}$ (EHLERINGER und BJÖRKMAN, 1977) und lassen die Tendenz zu höheren Werten in den LL- als

in den HL-Pflanzen erkennen (um 10 - 70 %). Die Blätter der #57 nahmen im linearen Bereich der Lichtabhängigkeitskurve pro mol eingestrahlte Quanten ebensoviel CO₂-Moleküle wie der WT auf. Bei den Blättern der #25 waren geringere Φ_{app} -Werte im Vergleich zur SNN um 14 % und der #42 um 54 bis 31 % zu verzeichnen (Tab. 8). Die Tabakpflanzen unter LL-Bedingungen zeigten eine signifikante Erhöhung der reellen Quantenausbeuten um 24 bis 47 % im Vergleich zu den unter HL angezogenen Pflanzen. Tabakblätter mit Chl-Defizienz nahmen um bis zu 70 % (HL) bzw. 90 % (LL) mehr CO₂ pro absorbierte Quanten auf als die des entsprechenden WT's (Tab. 8).

3.4.2.3 Dunkelrespirationsraten

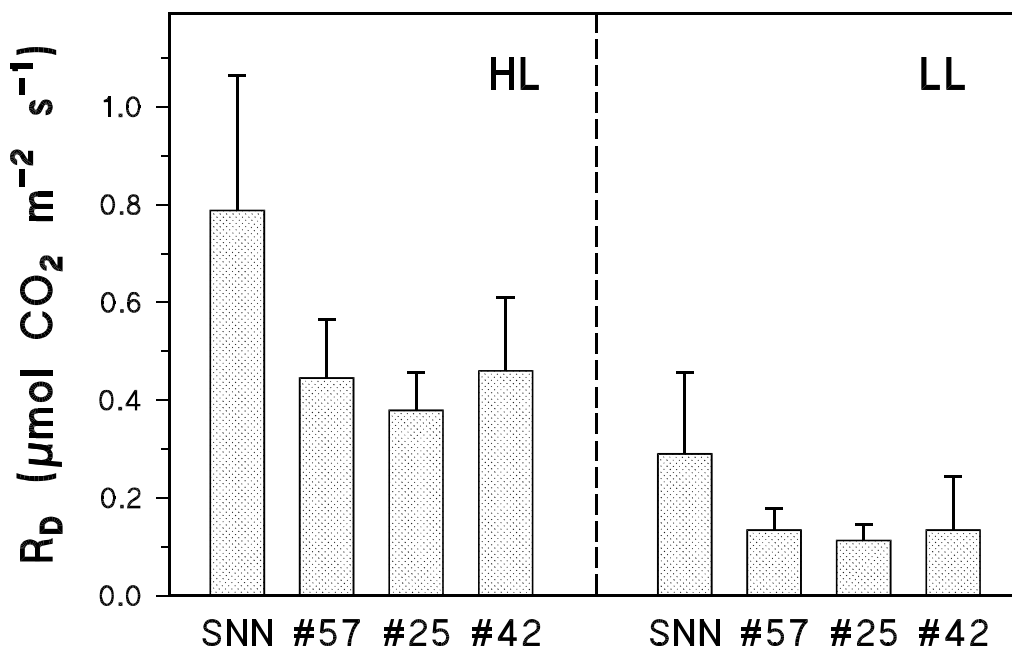


Abb. 23 Dunkelrespirationsraten (R_D ; in $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) in Blättern von unter HL (links) und LL (rechts) angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} + s$, $n \geq 5$).

Für die mitochondriale Atmung im Dunkeln wurden für die unter HL bzw. LL angezogenen SNN-Pflanzen Werte von 0.79 bzw. 0.29 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ermittelt (Abb. 23). Die R_D -Werte der Blätter der transgenen Pflanzen betrugen ca. die Hälfte (39 - 58 %) des am entsprechenden WT gemessenen Wertes (signifikant mit mind. $p < 0.05$), wobei die TF jeweils unter Stark- bzw. Schwachlicht im Vergleich untereinander keinen signifikanten Unterschied aufwiesen. LL-Bedingungen während der Anzucht bewirkten eine um 63 (SNN) bis 71 % (#42) niedrigere Dunkelrespirationsrate als in der entsprechenden HL-Variante (Abb. 23).

3.4.2.4 CO₂- und H₂O-Gaswechsel unter Anzucht-Lichtintensitäten

Beim Vergleich der Netto-CO₂-Aufnahmeraten, deren Messung bei Bedingungen, die den Anzuchtbedingungen entsprachen, erfolgte, wird deutlich, dass die #57 sowohl unter HL als auch unter LL gleiche Raten aufwiesen wie der WT (Abb. 24A). Die Blätter der #25 und #42 nahmen unter HL 37 bzw. 66 % und unter LL 24 bzw. 48 % weniger CO₂ pro Fläche und Zeit als der WT auf. Unter LL-Bedingungen betrug die CO₂-Aufnahmerate der Tabakpflanzen ca. 1/8 (SNN), 1/7 (#57), 1/6 (#25) bzw. 1/5 (#42) des Wertes der vergleichbaren HL-Variante (Abb. 24A).

Die Blattleitwerte für Wasserdampf (gH₂O, Abb. 24B) waren für die TF sowohl unter HL als auch unter LL nicht signifikant verschieden zum WT. Die Werte, die unter LL-Anzuchtbedingungen für die einzelnen Varianten gemessen wurden ($25 \pm 5 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), lagen etwa bei 22 bis 38 % des für die HL-Pflanzen durchschnittlichen Wertes von $78 \pm 8 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Abb. 24B).

Die ermittelten Werte für die CO₂-Konzentration in den Interzellularen (c_i , Abb. 24C) ergeben, dass bei den unter HL angezogenen Pflanzen ein Anstieg mit sinkendem Chl-Gehalt von 193 ppm beim WT auf 296 ppm bei der #42 zu beobachten war, unter LL dagegen der Wert in allen Varianten konstant bei ca. $293 \pm 10 \text{ ppm}$ lag. Daraus ergibt sich, dass in den LL- im Vergleich zu den HL-Pflanzen der SNN, #57 und #25 um 46 %, 37 % bzw. 12 % höhere c_i -Werte ermittelt wurden, die der #42 jedoch gleich waren (Abb. 24C).

Die ermittelten Quotienten $J_{\text{H}_2\text{O}}/J_{\text{CO}_2}$ (1/WUE, Abb. 24D) lassen keine Korrelation zwischen dem Chl-Gehalt und der Menge an abgegebenem H₂O pro aufgenommenem CO₂ erkennen, es liegt jedoch eine Tendenz zu erhöhten Werten bei stark reduziertem Chl-Gehalt vor. Unter LL betrugen die $J_{\text{H}_2\text{O}}/J_{\text{CO}_2}$ -Werte das 1,5 bis 2.9fache der an den HL-Pflanzen gemessenen Werte (1/WUE, Abb. 24D).

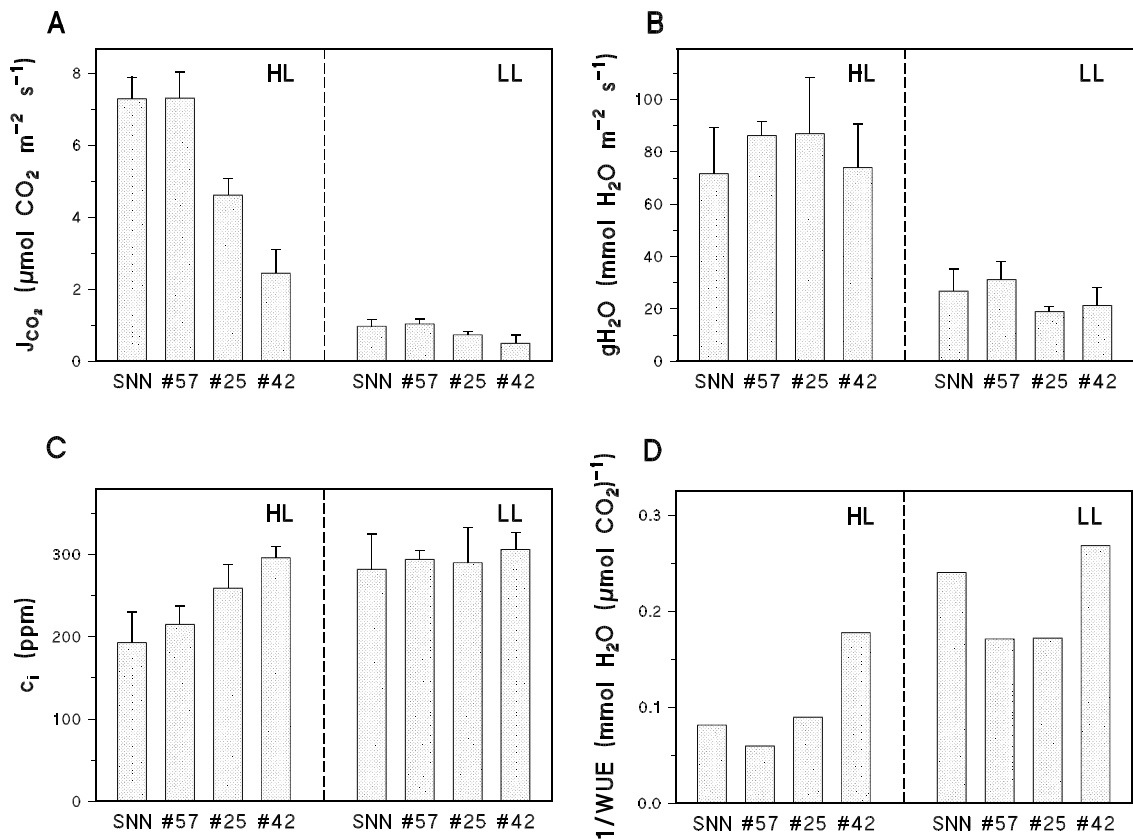


Abb. 24 Netto- CO_2 -Aufnahmeraten (A; J_{CO_2} , in $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), Blattleitwerte für Wasserdampf (B; $g_{\text{H}_2\text{O}}$, in $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), CO_2 -Konzentration in den Mesophyll-Interzellularen (C; c_i , in ppm) und Quotient $J_{\text{H}_2\text{O}}/J_{\text{CO}_2}$ (D; Kehrwert des water use efficiency, $1/WUE$, in $\text{mmol H}_2\text{O } (\mu\text{mol CO}_2)^{-1}$) unter Anzucht-PPFD's in Blättern von unter HL (je links) und LL (je rechts) angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} + s$, $n \geq 5$).

3.4.3 PHOTORESPIRATIONS RATEN

Die in Kap. 2.2.4 beschriebene Methode erlaubt die Bestimmung des Anteiles, um den die Netto- CO_2 -Aufnahmerate unter ambienten Luft-Bedingungen (21 % O_2 , 0.035 % CO_2) infolge der RubisC/O-Oxygenase-Aktivität vermindert ist und somit indirekt der Rate, mit der CO_2 durch die Photorespiration im Licht freigesetzt wird. Durch die Reduzierung der O_2 -Konzentration in der Luft auf 2 % ist die Photorespiration vollständig inhibiert, diese Bedingungen erlauben aber das Funktionieren anderer O_2 -abhängiger Prozesse, v. a. der mitochondrialen Atmung (LARCHER, 1994; VON WILLERT *et al.*, 1995; ANDREWS und BAKER, 1997).

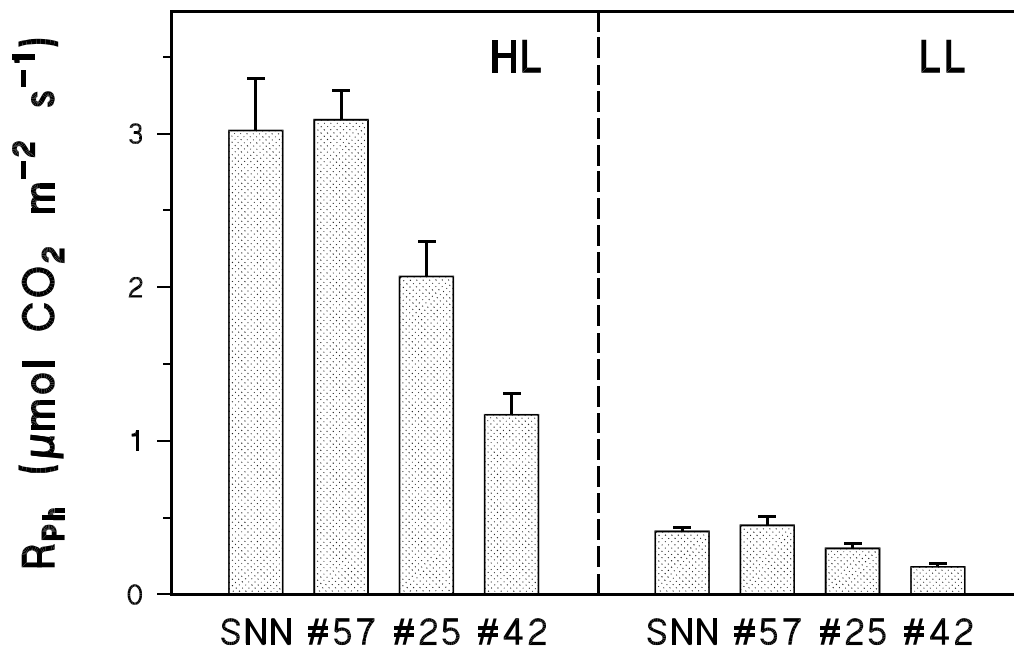


Abb. 25 Photorespirationsraten (R_{ph} , in $\mu\text{mol freigesetztes CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) unter Anzuchtlicht in Blättern von unter HL (links) und LL (rechts) angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} + s$, $n = 3 - 6$).

Die unter beiden Anzuchtlichtbedingungen durch die Photorespiration freigesetzte Menge an CO_2 in den Blättern der #57 unterschied sich nicht von der in den SNN-Blättern (Abb. 25). Mit stärkerer Verringerung des Chl-Gehaltes (Abb. 6) und der CO_2 -Aufnahmeraten (Abb. 24A) in den TF wurden jedoch auch verminderte Photorespirationsraten gemessen. So lag diese in den Blättern der #25 bei ca. 70 % und in denen der #42 bei ca. 40 % des Wertes der entsprechenden WT-Blätter. Beim Vergleich der unterschiedlichen Anzuchtlichtintensitäten zeigte sich, dass alle Pflanzen unter LL eine Photorespirationsrate von ca. 15 % der in den vergleichbaren HL-Varianten gemessenen Rate aufwiesen (Abb. 25). Da diese Tendenz sehr ähnlich der der CO_2 -Aufnahmeraten in Abhängigkeit von Anzuchtlicht und Chlorophyllgehalt (Abb. 24A) ist, ergaben sich kaum Unterschiede in dem durch die photorespiratorische Aktivität verminderten Anteil der CO_2 -Fixierung (Tab. 9). Unter Anzuchtlicht zeigte nur die #42-LL mit einer durch R_{ph} um 26.6 % verminderten Netto- CO_2 -Austauschrate einen signifikant unterschiedlichen Wert im Vergleich zu denen der anderen Varianten, bei denen dieser Anteil bei 29.2 bis 32.3 % lag. Unter sättigendem Mess-Licht ergaben sich Prozentsätze von 23.2 bis 32.9 %, jedoch zeichnete sich hier in den chl-armen LL-Pflanzen eine signifikante Erhöhung dieses Wertes ab (Tab. 9).

Tab. 9 Anteil der Photorespiration (% R_{Ph} ; in % Verlust von CO_2) unter Anzuchtlicht und unter sättigendem Licht für Blätter von unter HL und LL angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3 - 6$). Der t-Test wurde für den Vergleich der TF zum WT (I) sowie den Vergleich der LL- mit den HL-Varianten (II) durchgeführt.

Variante		% R_{Ph} Anzuchtlicht	t-Test I II		% R_{Ph} sättig. Licht	t-Test I II	
HL	SNN	29.3 ± 1.6			29.3 ± 3.6		
	#57	29.7 ± 2.1	–		26.4 ± 1.1	–	
	#25	31.0 ± 2.5	–		28.2 ± 2.2	–	
	#42	32.3 ± 2.6	–		32.9 ± 1.4	–	
LL	SNN	29.6 ± 1.2		–	23.2 ± 2.4		–
	#57	30.2 ± 2.2	–	–	25.4 ± 3.2	–	–
	#25	29.2 ± 2.9	–	–	30.6 ± 1.8	++	–
	#42	26.6 ± 0.9	++	+	30.2 ± 1.8	+	–

3.4.4 RELATIVE STOMATÄRE LIMITIERUNG DES CO_2 -AUSTAUSCHES

Um einschätzen zu können, inwieweit morphologische und funktionelle Veränderungen der stomatären Appertur zu den aufgeführten Unterschieden in den Parametern des CO_2 - und H_2O -Gaswechsels innerhalb der Tabak-Varianten beitragen, wurde neben der Stomataanzahl und -dichte (Kap. 3.2.2.2) die Limitierung der CO_2 -Austauschrate durch die Stomata und Epidermis ermittelt. Die Methode zur Bestimmung dieser relativen stomatären Limitierung (RSL; Kap. 2.2.4) beruht auf der Annahme, dass bei fehlender stomatärer Limitierung die innere CO_2 -Konzentration der in der Umgebungsluft entsprechen würde (FARQUHAR und SHARKEY, 1982). Sie wird für C_3 -Pflanzen unter Lichtsättigung in der Literatur mit ca. 10 bis 20 % angegeben (VON WILLERT *et al.*, 1995). Unter sättigendem Messlicht zeigte sich bei dem Vergleich der transgenen zu den SNN-Pflanzen erst bei den chl-ärmeren TF eine Verringerung der RSL um 74 % (HL) bzw. um ca. 40 % (LL). Unter LL-Anzuchtbedingungen ist die stomatäre Limitierung von J_{CO_2} bei den Pflanzen der SNN, #57 und #25 geringer ausgeprägt als bei den vergleichbaren Starklicht-Varianten (61, 67 bzw. 41 % des HL-Wertes), wogegen die #42 unter LL einen um 36 % höheren RSL-Wert aufweist (Abb. 26).

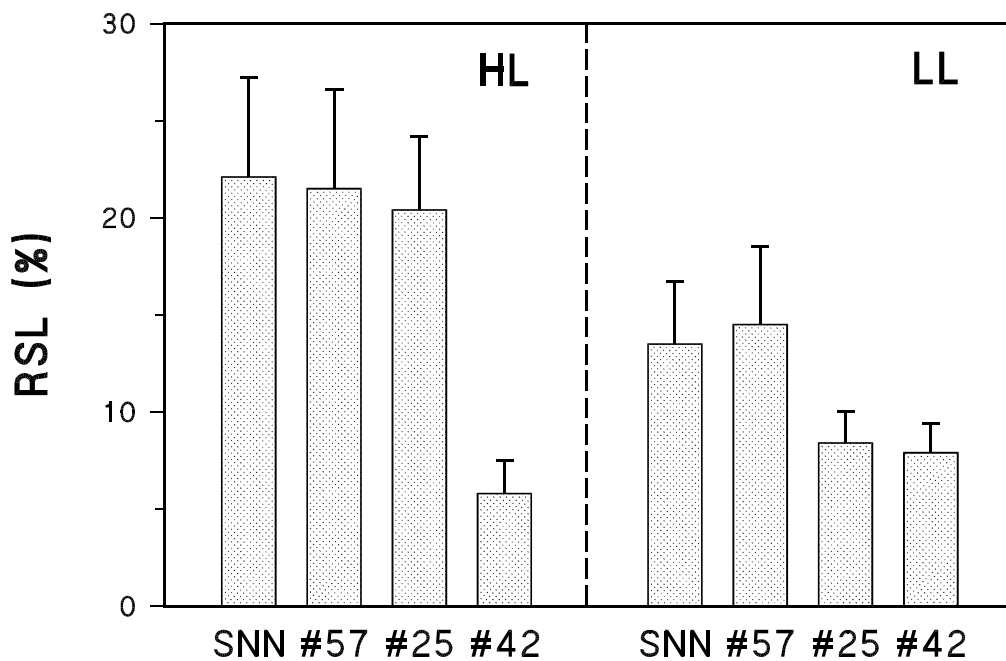


Abb. 26 Relative stomatäre Limitierung (RSL, in %) in Blättern von unter HL (links) und LL (rechts) angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} + s$, $n = 12 - 27$).

3.5 ENERGISTOFFWECHSEL

Die im Kapitel 3.3 beschriebene verringerte Lichtabsorption infolge von Chlorophyll-Defizienz bzw. Schwachlichtbedingungen kann unterschiedliche photochemische Reaktionen zur Folge haben, die ihrerseits Veränderungen in der ATP- und NADPH^+H^+ -Bereitstellung hervorrufen würden. Ebenso lassen die Unterschiede im CO_2 -Gaswechsel (Kap. 3.4), die auf ungleiche Aktivitäten des Calvin-Zyklus - d. h. der wichtigsten Energie- und Reduktionsäquivalente-verbrauchenden Dunkelreaktionen der Photosynthese - hinweisen, Veränderungen im Adenylat- und Pyridinnucleotid-Stoffwechsel erwarten.

Die Berechtigung, von aus Ganzblattextrakten gewonnenen Befunden auf chloroplastidäre Prozesse zu schließen, ergibt sich aus folgenden Tatsachen: Der gesamte zelluläre Pool der AdN verhält sich sowohl im Licht als auch im Dunkeln als ein uniformer Pool und ist unabhängig von Temperatur, PPFD und c_i (KOBAYASHI *et al.*, 1982; GILMORE und BJÖRKMAN, 1994). Die Änderungen der AdN im Chloroplasten und Zytosol folgen sehr ähnlichen Kinetiken infolge eines rapiden direkten sowie indirekten AdN-Energie-Transfers zwischen diesen Kompartimenten (HEBER und SANTARIUS, 1970; RAYMOND *et al.*, 1987), der v. a. durch einen ATP/ADP-Translokator in der Chloroplastenhülle vermittelt wird (RAYMOND *et al.*, 1987;

KRÖMER, 1995; NEUHAUS *et al.*, 1997). Außerdem liegt im Licht in der Zelle der größte Anteil an Adenylaten (ca. 70 %) in den Chloroplasten vor (STITT *et al.*, 1982; GARDESTRÖM, 1987; RAYMOND *et al.*, 1987) und 90 % des synthetisierten ATP stammen aus den Chloroplasten (HAMPP *et al.*, 1982; HOFFMANN, 1985; LAWLOR, 1990). In den Mitochondrien wurden nur sehr geringe AdN-Mengen in Relation zu den anderen Kompartimenten gefunden (RAYMOND *et al.*, 1987).

Auch bei den Pyridinnucleotiden findet ein ständiger Austausch zur Versorgung und zum Erreichen eines Gleichgewichtes zwischen den Kompartimenten statt. Ein Malat-*shuttle* in der Chloroplastenhülle (SCHEIBE, 1987 und 1990) erfüllt diese Funktion zwischen Chloroplast und Zytoplasma für das NADP(H⁺H⁺)-System. Trotzdem liegt der größere Anteil des NADP(H⁺H⁺)-Pools im Zytosol vor (ca. 50 - 65 %), der NAD(H⁺H⁺)-Pool ist dagegen aufgrund geeigneter Transportsysteme in allen Kompartimenten gleich (RAYMOND *et al.*, 1987). Daher wurde zusätzlich die Aktivität der NADP⁺-abhängigen MDH ermittelt, da diese, v. a. der Aktivierungsstatus des Enzyms (Verhältnis von *in vivo*-Aktivität zu Vollaktivität), generell als ein metabolischer Indikator für den Reduktionsstatus des stromalen NADP⁺-Pools verwendet wird (SCHEIBE und STITT, 1988; SCHEIBE, 1990; FOYER *et al.*, 1990; HARBINSON *et al.*, 1990; QUICK *et al.*, 1991; LEEGOOD, 1993; IVANITZEV und KURGANOV, 1993; BIEHLER, 1995; BATINI *et al.*, 1995; KITZMANN, 1996; GRACE und LOGAN, 1996).

3.5.1 ADENYLATE

Bei den chl-defizienten TF war im Vergleich zum WT nur eine geringe Veränderung im Gesamtgehalt an Adenylaten pro Fläche zu verzeichnen (Abb. 27). Unter HL-Bedingungen zeigten die Pflanzen der #57 einen (mit $p < 0.001$) signifikant höheren AdN-Gehalt um 18 %, die der #25 keine signifikante Veränderung und die der #42 einen (mit $p < 0.001$) signifikant niedrigeren Gesamt-AdN-Pool um 20 % als die SNN-Pflanzen. Die reduzierten Gesamt-Gehalte bei der #42 resultieren aus einer Verringerung von ATP um 14 %, ADP um 9 % und AMP um 63 %. Unter LL-Bedingungen waren die Gehalte an Adenylaten - außer in der #42 mit einer 12 %igen Erhöhung (statistisch abgesichert auf dem 5 %-Niveau) - in den TF gleich zum WT. LL-Bedingungen während der Anzucht bewirkten eine Reduzierung des Adenylat-gehaltes pro Fläche auf 24 bis 39 % der entsprechenden HL-Variante.

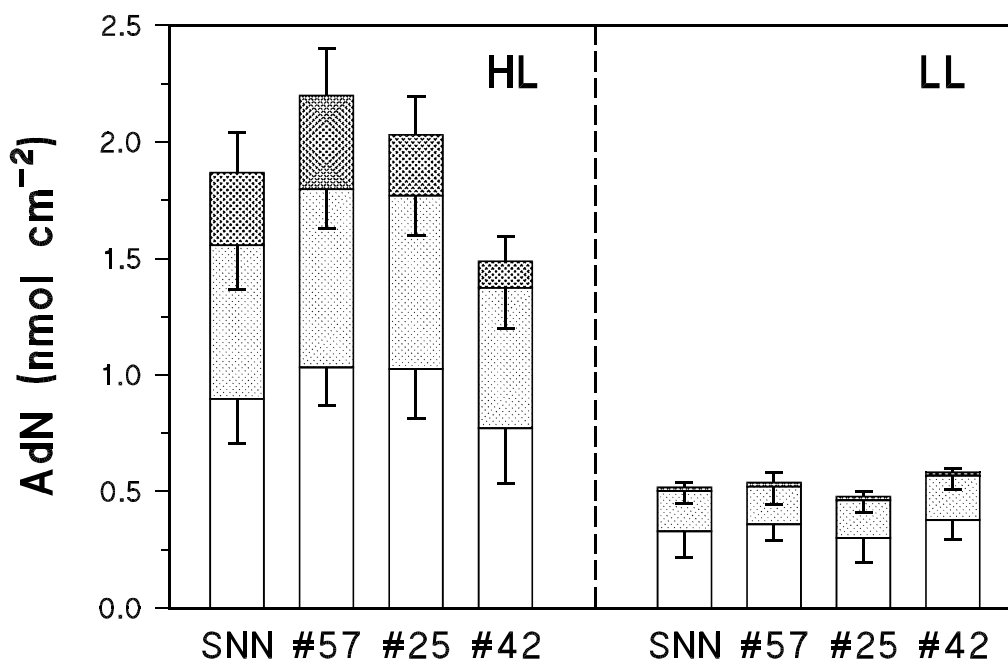


Abb. 27 Gehalte an ATP (□), ADP (▨) und AMP (■) (in nmol cm^{-2}) in Blättern von unter HL (links) und LL (rechts) angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} \pm s$, $n = 30 - 61$).

Diese verminderten Gehalte resultierten aus einer Verringerung von sowohl ATP als auch ADP und AMP, wobei aber AMP um 88 bis 96 %, ATP dagegen nur um 51 bis 71 % reduziert war (Abb. 27). Aufgrund dieser unterschiedlichen Veränderung der Gehalte der einzelnen AdN in den Tabak-Varianten ergaben sich Verschiebungen im Pool-Verhältnis der Adenylate zueinander (Abb. 28). Es zeigt sich, dass unter HL mit sinkendem Chlorophyllgehalt in den Tabakblättern eine Verringerung des AMP- (von 17 auf 8 %) sowie tendenziell eine leichte Erhöhung des ATP-Anteiles (von 48 auf 52 %; nicht signifikant) zu verzeichnen war (Abb. 28). Daraus ergaben sich auch die erhöhten EC-Werte in den TF (Tab. 10). Unter Schwachlichtbedingungen wiesen die TF und der WT konstante Relationen der AdN zueinander (ATP: 63 - 67 %, ADP: 30 - 34 %, AMP: 2 - 3%) (Abb. 28) und gleiche EC-Werte (Tab. 10) auf. In allen unter LL im Vergleich zu den entsprechenden unter HL angezogenen Varianten war der prozentuale Anteil an ATP signifikant (mit $p < 0.001$) um 13 bis 20 % erhöht, der AMP-Anteil am Gesamt-Adenylatpool dagegen um 6 bis 15 % vermindert (Abb. 28). Dieses führte zu einem deutlichen Anstieg der EC-Werte um 0.09 bis 0.18 (Tab. 10). Die TF zeigten in beiden Anzucht-Lichtintensitäten im Vergleich zu den SNN-Pflanzen keinen Unterschied in den ATP/ADP-Verhältnissen, dagegen waren diese Werte bei den LL- im Vergleich zu den HL-Pflanzen um 1/3 bis 2/3 höher (Tab. 10).

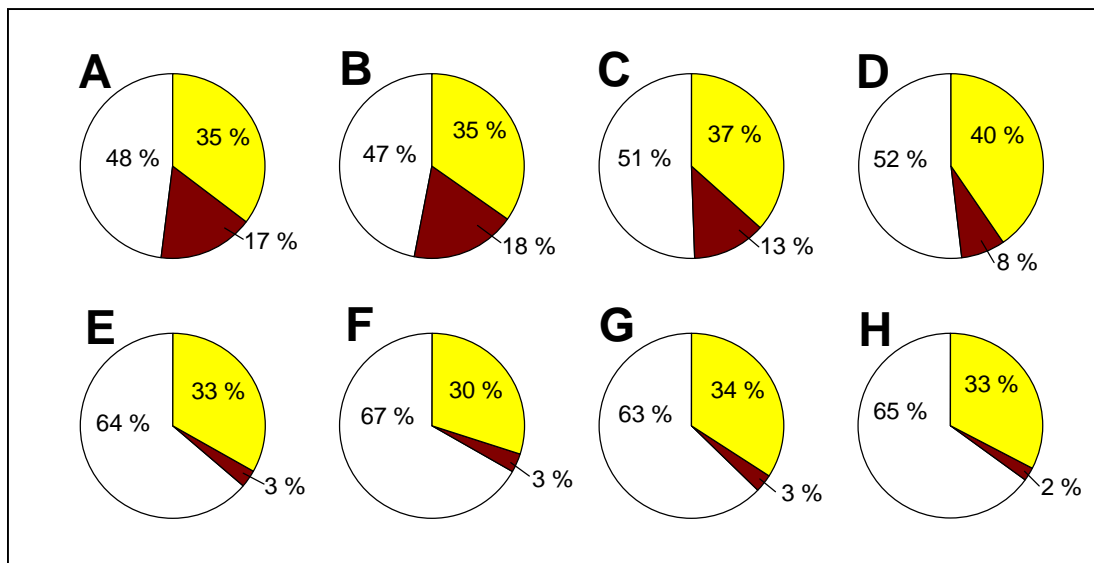


Abb. 28 Prozentualer Anteil von ATP (□), ADP (■) und AMP (■) am Gesamt-Adenylatpool in Blättern von unter HL (oben, A - D) und LL (unten, E - H) angezogenen Tabakpflanzen der SNN (A, E), #57 (B, F), #25 (C, G) und #42 (D, H). Die relativen Werte wurden aus den in Abb. 27 dargestellten Gehalten (in nmol cm⁻²) berechnet.

Tab. 10 ATP/ADP-Verhältnisse und *energy charge* (EC) in Blättern von unter HL und LL angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} \pm s$, n = 30 - 61). Der t-Test wurde für den Vergleich der TF zum WT (I) sowie den Vergleich der LL- mit den HL-Varianten (II) durchgeführt.

Variante		ATP/ADP	t-Test		EC	t-Test	
			I	II		I	II
HL	SNN	1.36 ± 0.50			0.66 ± 0.06		
	#57	1.35 ± 0.46	—		0.64 ± 0.09	—	
	#25	1.38 ± 0.61	—		0.69 ± 0.06	++	
	#42	1.28 ± 0.43	—		0.72 ± 0.05	+++	
LL	SNN	1.92 ± 0.81		+++	0.80 ± 0.06		+++
	#57	2.23 ± 0.72	—	+++	0.82 ± 0.07	—	+++
	#25	1.84 ± 0.88	—	++	0.80 ± 0.08	—	+++
	#42	1.99 ± 0.75	—	+++	0.81 ± 0.03	—	+++

3.5.2 PYRIDINNUCLEOTIDE

In den Blättern der Starklicht-TF war ein um 12 bis 42 % verminderter Gesamt-PN-Pool (in nmol cm^{-2}) im Vergleich zum WT zu verzeichnen, wogegen unter LL der Gehalt aller PN in den transgenen Pflanzen gleich dem in den Blättern der SNN (#57, #25) oder sogar um 36 % (#42) höher war (Abb. 29). Daher wiesen beim Vergleich der LL- gegenüber den HL-Varian-ten die Pflanzen der #42 eine um ca. 60 %, die der SNN, #57 und #25 dagegen eine um ca. 80 % geringere Gesamtmenge der Pyridinnucleotide auf. Diese Änderungen im Pool-Gehalt der PN in den Tabak-Varianten waren auf Veränderungen in den Gehalten aller 4 PN's zurückzuführen, wenn auch in unterschiedlichem Ausmaß. Daraus ergaben sich Variationen der relativen Anteile von NADP^+ , NADPH^+H^+ , NAD^+ sowie NADH^+H^+ am Gesamtpool (Abb. 30). So war v. a. in den Blättern der chl-ärmsten TF #42 im Vergleich zum WT sowohl unter Stark- als auch unter Schwachlichtbedingungen eine Verminderung des relativen NADP^+ - (von 44 auf 37 % bzw. von 39 auf 33 %; $p < 0.001$) und eine Erhöhung des NADPH^+H^+ -Anteiles (von 22 auf 29 % bzw. von 37 auf 40 %; $p \text{ mind. } < 0.05$) zu verzeichnen. Das $\text{NAD}(\text{H}^+\text{H})^+$ -Paar war dagegen in weitestgehend konstanter Proportion vorhanden.

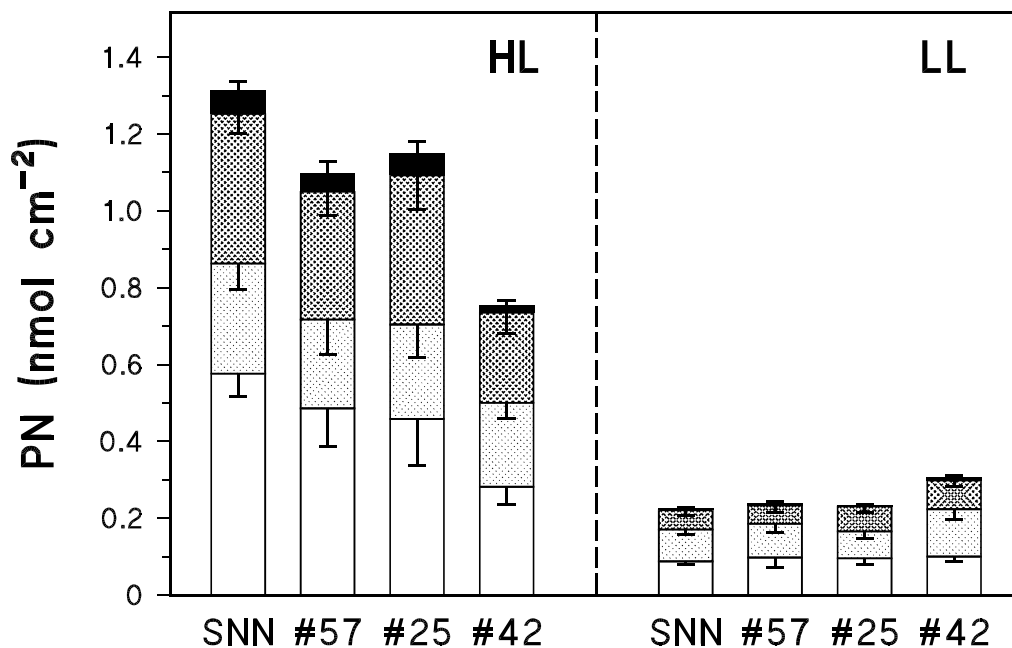


Abb. 29 Gehalte an NADP^+ (\square), NADPH^+H^+ (\square), NAD^+ (\blacksquare) und NADH^+H^+ (\blacksquare) (in nmol cm^{-2}) in Blättern von unter HL (links) und LL (rechts) angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} \pm s$, $n = 16 - 32$).

LL-Anzuchtbedingungen bewirkten einen signifikanten ($p < 0.001$) Anstieg des NADPH^+H^+ -Anteiles um 9 bis 16 % gegenüber den HL-Varianten, NADP^+ und NADH^+H^+ zeigten gleiche bis leicht geringere Prozentwerte, NAD^+ lag dagegen mit 6 bis 10 % weniger im Gesamtpool vor ($p < 0.01$) (Abb. 30).

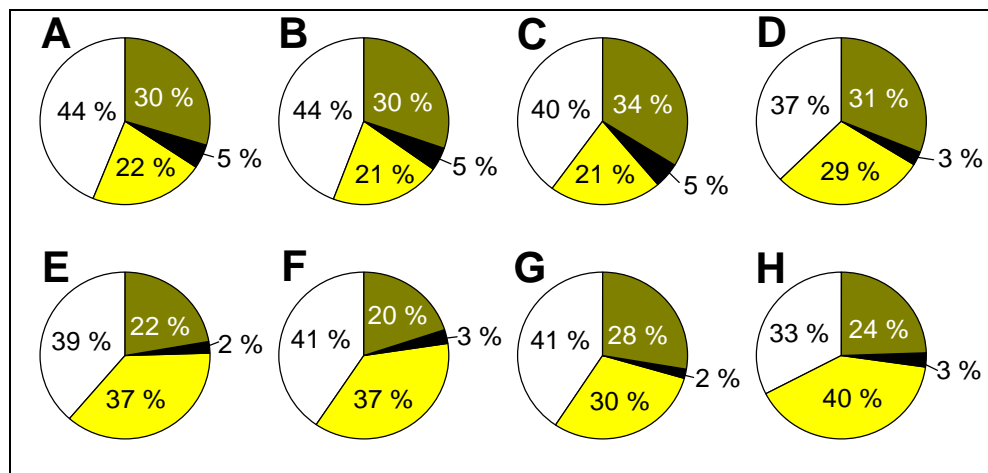


Abb. 30 Prozentualer Anteil von NADP^+ (□), NADPH^+H^+ (■), NAD^+ (■) und NADH^+H^+ (■) am Gesamt-Pyridinnucleotidpool in Blättern von unter HL (oben, A - D) und LL (unten, E - H) angezogenen Tabakpflanzen der SNN (A, E), #57 (B, F), #25 (C, G) und #42 (D, H). Die relativen Werte wurden aus den in Abb. 29 dargestellten Gehalten (in nmol cm^{-2}) berechnet.

Tab. 11 Reduction charge (RC), anabolic (ARC) und catabolic reduction charge (CRC) in Blättern von unter HL und LL angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} \pm s$, $n = 16 - 32$). Der t-Test wurde für den Vergleich der TF zum WT (I) sowie den Vergleich der LL- mit den HL-Varianten (II) durchgeführt.

Variante		RC	t-Test		ARC	t-Test		CRC	t-Test	
			I	II	[NADP(H)-System]	I	II	[NADP(H)-System]	I	II
HL	SNN	0.26 ± 0.04			0.33 ± 0.05			0.13 ± 0.04		
	#57	0.25 ± 0.09	–		0.32 ± 0.10	–		0.13 ± 0.06	–	
	#25	0.26 ± 0.06	–		0.35 ± 0.06	–		0.12 ± 0.05	–	
	#42	0.32 ± 0.04	+++		0.44 ± 0.04	+++		0.08 ± 0.06	++	
LL	SNN	0.39 ± 0.05		+++	0.49 ± 0.04		+++	0.09 ± 0.06		+
	#57	0.39 ± 0.08	–	+++	0.48 ± 0.09	–	+++	0.10 ± 0.08	–	–
	#25	0.31 ± 0.08	+++	++	0.42 ± 0.09	++	++	0.06 ± 0.05	–	+++
	#42	0.43 ± 0.04	+	+++	0.55 ± 0.05	+++	+++	0.10 ± 0.06	–	–

Tab. 12 Verhältnisse von reduzierten zu oxidierten PN des Gesamtpools der PN ($\text{NAD(P)H}^+\text{H}^+/\text{NAD(P)}^+$), des phosphorylierten PN-Paares ($\text{NADPH}^+\text{H}^+/\text{NADP}^+$) und des nicht-phosphorylierten PN-Paares ($\text{NADH}^+\text{H}^+/\text{NAD}^+$) in Blättern von unter HL und LL angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} \pm s$, $n = 16 - 32$). Der t-Test wurde für den Vergleich der TF zum WT (I) sowie den Vergleich der LL- mit den HL-Varianten (II) durchgeführt.

Variante		$\text{NAD(P)H}^+\text{H}^+/\text{NAD(P)}^+$		t-Test I II		$\text{NADPH}^+\text{H}^+/\text{NADP}^+$		t-Test I II		$\text{NADH}^+\text{H}^+/\text{NAD}^+$		t-Test I II	
HL	SNN	0.36 ± 0.08				0.50 ± 0.11				0.16 ± 0.06			
	#57	0.35 ± 0.17		–		0.50 ± 0.25		–		0.15 ± 0.09		–	
	#25	0.36 ± 0.10		–		0.54 ± 0.16		–		0.14 ± 0.06		–	
	#42	0.47 ± 0.09		+++		0.78 ± 0.12		+++		0.09 ± 0.07		++	
LL	SNN	0.65 ± 0.13			+++	0.96 ± 0.14			+++	0.12 ± 0.08			–
	#57	0.68 ± 0.22		–	+++	0.97 ± 0.37		–	+++	0.13 ± 0.08		–	–
	#25	0.48 ± 0.19		++	++	0.77 ± 0.29		+	++	0.07 ± 0.04		–	+++
	#42	0.75 ± 0.12		+	+++	1.24 ± 0.26		+++	+++	0.12 ± 0.07		–	–

Die in Tab. 11 und 12 dargestellten Daten lassen erkennen, dass sowohl in der stark chlorotischen #42 im Vergleich zum WT als auch in den LL- im Vergleich zu den HL-Pflanzen der ARC und das $\text{NADPH}^+\text{H}^+/\text{NADP}^+$ -Verhältnis signifikant erhöht waren, wogegen der CRC und das $\text{NADH}^+\text{H}^+/\text{NAD}^+$ -Verhältnis weitgehend konstant blieben. Daraus resultierte in den TF ein um 20 % (#42-HL) bzw. um 9 % (#42-LL) höherer RC-Wert als im entsprechenden WT und in den LL- gegenüber den HL-Pflanzen ein um das 1.2 bis 1.6fache erhöhter RC. Ebenfalls ergibt sich daraus die beobachtete Erhöhung des $\text{NAD(P)H}^+\text{H}^+/\text{NAD(P)}^+$ -Verhältnisses in der #42 auf 130 % (HL) bzw. 116 % (LL) der SNN sowie in den unter LL-Bedingungen angezogenen Pflanzen auf 135 bis 192 % der HL-Blätter (Tab. 11, 12).

3.5.3 NADP^+ -ABHÄNGIGE MDH

Die blattflächenbezogene *in vivo*-Aktivität der NADP^+ -MDH blieb in den unter HL gewachsenen transgenen Pflanzen unverändert (#25) bzw. war um 13 (#57) oder 42 % (#42) im Vergleich zum WT reduziert. Unter LL war eine Erhöhung der MDH-Aktivität um ca. 1/3 des in den Kontrollpflanzen gemessenen Wertes zu beobachten (Abb. 31). Gegenüber den Starklicht-Pflanzen zeigten die unter $30 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ angezogenen Varianten 83 (SNN) bis

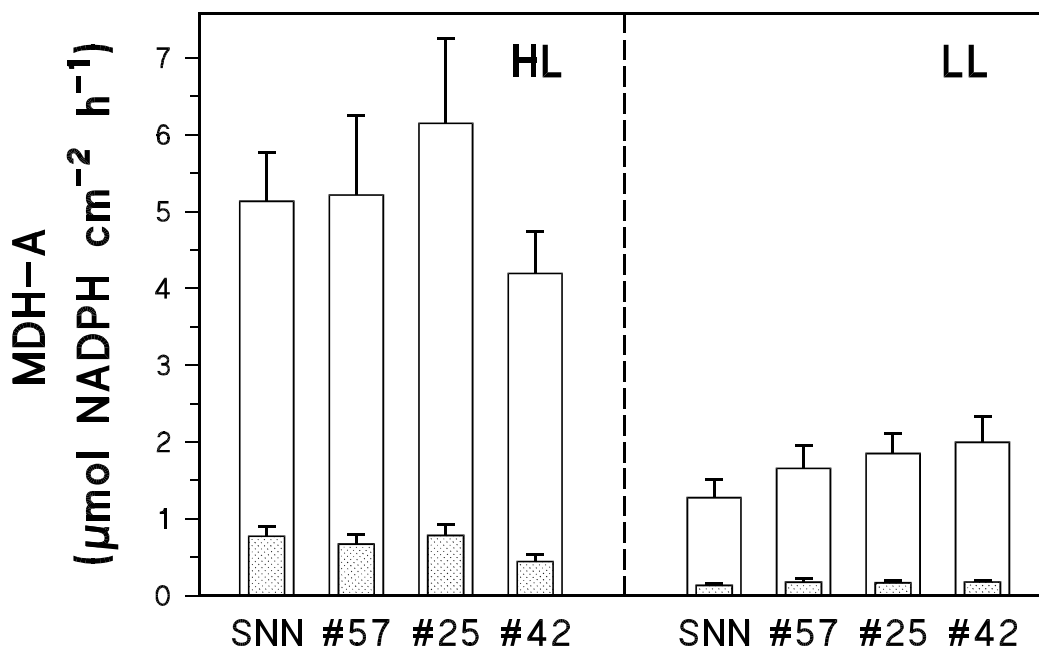


Abb. 31 *In vivo*-Aktivität (■) und Vollaktivität (□) der NADP⁺-abhängigen MDH (in μmol NADPH⁺H⁺ cm⁻² h⁻¹) in Blättern von unter HL (links) und LL (rechts) angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} \pm s$, n = 32 - 49).

Tab. 13 Aktivierungszustand der NADP⁺-abhängigen MDH (*in vivo*-Aktivität (A) in % der Vollaktivität (VA)) in Blättern von unter HL und LL angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} \pm s$, n = 32 - 49). Der t-Test wurde für den Vergleich der TF zum WT (I) sowie den Vergleich der LL- mit den HL-Varianten (II) durchgeführt.

Variante		% A/VA	t-Test	
			I	II
HL	SNN	15.0 ± 3.4		
	#57	14.3 ± 3.1	–	
	#25	12.8 ± 2.2	+++	
	#42	10.6 ± 1.5	+++	
LL	SNN	10.8 ± 2.4		+++
	#57	10.6 ± 1.6	–	+++
	#25	9.2 ± 1.7	+++	+++
	#42	9.1 ± 1.3	+++	+++

60 % (#42) geringere Aktivitäten der chloroplastidären MDH. Nach Vollaktivierung des Enzyms zeigte sich, dass nur 9 (#42-LL) bis 15 % (SNN-HL) des Gesamt-Enzyms *in vivo* unter den gegebenen Bedingungen aktiviert waren (Tab. 13). Dieser relative Anteil der MDH-Aktivität an der maximal möglichen Aktivität, d. h. der Aktivierungszustand des Enzyms, sank mit reduziertem Chl-Gehalt und verringertem Lichtangebot bis auf 70 % des Kontrollwertes. Dieses resultierte v. a. aus der Tatsache, dass die Vollaktivitäten der NADP⁺-abhängigen MDH in den Tabak-Varianten zwar ähnlich den *in-vivo*-Aktivitäten variierten, die Werte in Relation zur jeweiligen Kontrolle jedoch höher waren (Abb. 31). So lag die maximale MDH-Aktivität der HL-TF bei 102 (#57), 120 (#25) bzw. 82 % (#42) und der LL-TF beim 1.3- (#57), 1.5-

(#25) bzw. 1.6fachen (#42) der in den vergleichbaren WT-Blättern. LL-Bedingungen führten zu einer Reduzierung der Vollaktivität um 75 (SNN) bis 52 % (#42) (Abb. 31).

3.6 METABOLITEN DES C- UND N-STOFFWECHSELS

Die grünen Blätter sind photosynthetisch aktive Organe, welche die absorbierte Lichtenergie in reduzierte organische Komponenten überführen und speichern. Diese Assimilate repräsentieren den Pool sowohl an Energie als auch an solchen Metaboliten, welche für Wachstum und Entwicklung erforderlich sind. Durch Licht- und Chlorophyllmangel waren die absorbierte Lichtmenge (Kap. 3.3), die CO₂-Aufnahme- (Kap. 3.4) und die Wachstumsraten der Tabakpflanzen (Kap. 3.2) beeinflusst, demzufolge waren auch Veränderungen in den Gehalten direkt oder indirekt mit dem Calvin-Zyklus verbundener Metaboliten zu erwarten. Da die photosynthetische Kohlenstoffassimilation die Voraussetzung für die Bildung nicht nur von Kohlenhydraten, sondern auch von Aminosäuren, Proteinen etc. darstellt und die Sequenzen von Kohlenstoff- und Stickstoffmetabolismus in Pflanzen parallel moduliert werden (FOYER *et al.*, 1995), war es ebenso von Interesse, welche Auswirkungen die bisher beschriebenen Veränderungen durch Licht- bzw. Chl-Mangel in den Tabakpflanzen auf die C- und N-Gehalte und deren Verhältnis zueinander haben.

3.6.1 STÄRKE

In den Pflanzen der SNN und #57 waren in den Tagesproben ähnliche (nicht signifikant unterschiedliche) Stärkegehalte von ca. 250 bis 290 µg Glu-Equivalente cm⁻² (HL) bzw. 29 bis 32 µg cm⁻² (LL) zu beobachten (Abb. 32A). Der Stärkegehalt in den Blättern der #25 betrug 67 (HL) bzw. 84 (LL) % und in denen der #42 nur noch 5 (HL) bzw. 28 (LL) % des vergleichbaren WT-Wertes. Aufgrund des sehr geringen Stärkegehaltes in den Lichtproben der #42-HL kam es bei dieser Variante nicht zu einem signifikanten Unterschied zwischen den unter verschiedenen PPFD angezogenen Pflanzen, wogegen der WT sowie die #57 und #25 unter LL

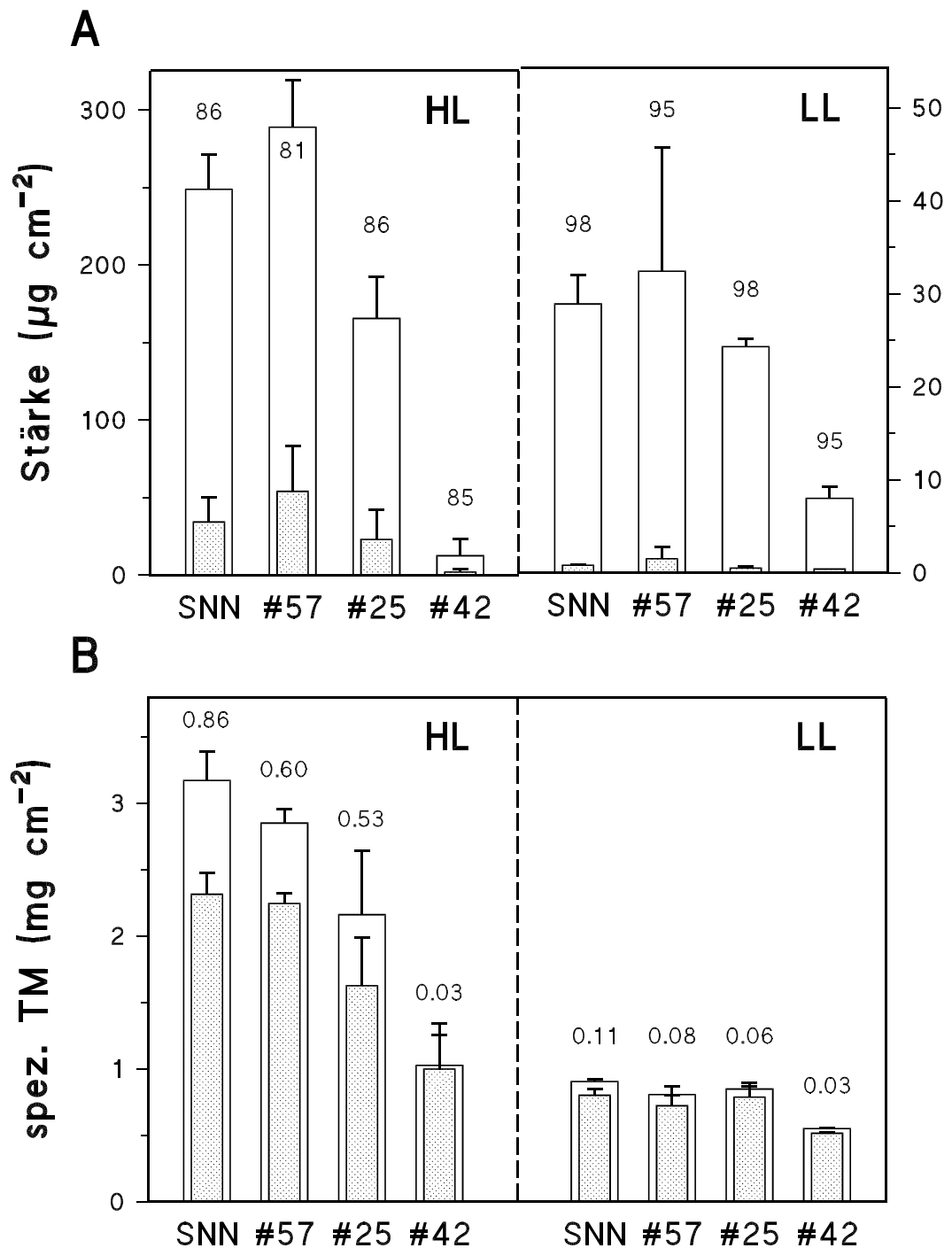


Abb. 32 Stärkegehalte (A; in $\mu\text{g Glu-Equivalenten cm}^{-2}$) sowie spezifische Trockenmassen (B; in mg cm^{-2}) in Licht- (□; 0.5 h vor Beendigung der Lichtphase) und Dunkelproben (■; 0.5 h vor Beendigung der Dunkelphase) von Blättern von unter HL (je links) und LL (je rechts) angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} + s$, $n = 3$). Die Werte über den Balken geben in A die über Nacht verbrauchte Stärkemenge in Relation zu der am Ende der Lichtphase vorhandenen Stärke (in %), in B die Differenz der Trockenmassen zwischen Licht- und Dunkelproben (ΔTM ; in mg cm^{-2}) an. Man beachte in A die unterschiedliche Skalierung der y-Achsen für HL und LL!

11 - 15 % der in den HL-Pflanzen gemessenen Stärkemenge enthielten. Bei allen Tabak-Varianten wurde der größte Teil der tagsüber akkumulierten Stärke über Nacht wieder verbraucht bzw. aus den Blättern abtransportiert. Dabei lag die Tendenz vor, dass in den LL-Blättern ein größerer Anteil der in den Lichtproben vorhandenen Stärke in der Dunkelheit abgebaut wurde (95 - 98 %) als in den HL-Blättern (81 - 86 %), jedoch war dieser Unterschied nicht signifikant (Abb. 32A; Werte über den Balken). Demzufolge waren am Ende der Dunkelphase in den Tabakblättern noch ca. 1.9 bis 54.0 $\mu\text{g cm}^{-2}$ unter HL bzw. 0.4 bis 1.5 $\mu\text{g cm}^{-2}$ unter LL enthalten (Abb. 32A).

Die Akkumulation von transienter Stärke im Laufe der Lichtperiode und der Abbau bzw. Abtransport dieser in der nachfolgenden Dunkelphase wurde auch durch die Differenz der Trockenmassen von am Ende der Licht- und am Ende der Dunkelphase entnommenen Proben verdeutlicht (Abb. 32B). Die Relationen der spezifischen Trockenmassen der einzelnen Tabak-Varianten zueinander blieben in den Dunkel-, ähnlich wie in den Lichtproben, erhalten. Die Differenz der TM (ΔTM) zwischen den jeweils am Ende der Licht- bzw. Dunkelphase entnommenen Proben nahm in den transgenen Pflanzen mit der Verringerung im Chl-Gehalt der Blätter ab, wobei bei den LL-Pflanzen diese Tendenz statistisch nicht abgesichert war (Abb. 32B; Werte über den Balken). Unter Schwachlicht betrug ΔTM bei den Blättern der SNN, #57 und #25 ca. 1/9 bis 1/7 der entsprechenden HL-Werte, wogegen die TM-Differenz bei der #42 unter Starklicht ebenso niedrig bei 0.03 mg cm^{-2} wie unter LL lag (Abb. 32B).

3.6.2 LÖSLICHE ZUCKER

Da die Gehalte an Saccharose, Glucose und Fructose teilweise an der Nachweisgrenze lagen, sowie aufgrund eines durch die Laborkapazität eingeschränkten Stichprobenumfangs lassen sich zu den löslichen Zuckern z. T. nur tendenzielle Aussagen machen. Die Gehalte an Saccharose, Glucose und Fructose (Abb. 33 A, B, C) waren in den Blättern der unter HL angezogenen SNN-Pflanzen sowohl in den Licht- als auch in den Dunkelproben höher als in den HL-TF. Unter LL-Anzuchtbedingungen scheint die Tendenz zu höheren Zuckergehalten in den transgenen Pflanzen im Vergleich zum WT vorzuliegen, obwohl die meisten Werte nicht signifikant unterschiedlich sind. Die Tabakpflanzen, die unter Schwachlichtbedingungen angezogen wurden, wiesen in Licht- und Dunkelproben sehr viel geringere (um mind. 75 %) Zuckerspiegel als die vergleichbaren HL-Varianten auf (Abb. 33).

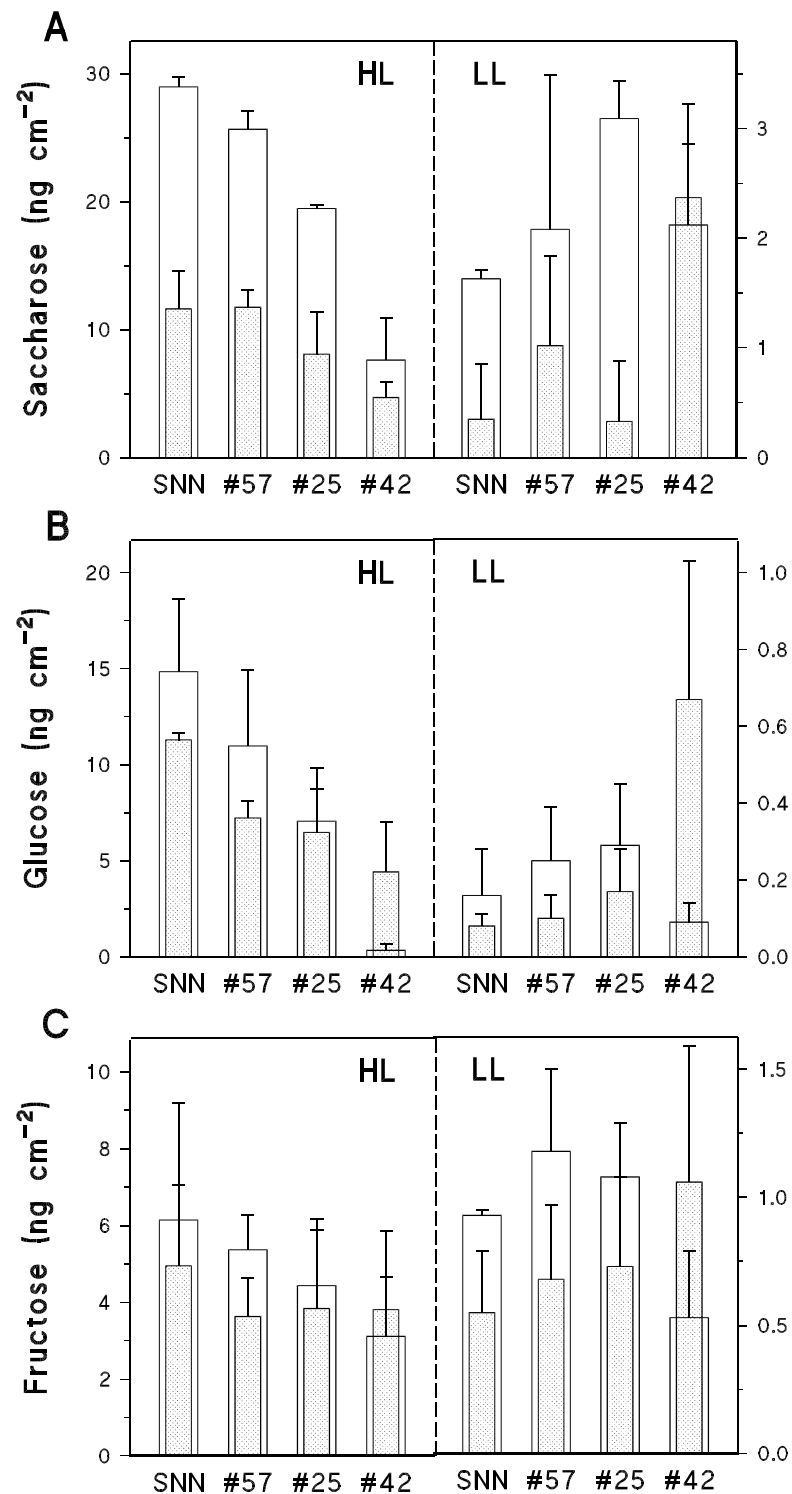


Abb. 33 Gehalte (in ng cm⁻²) an Saccharose (A), Glucose (B) sowie Fructose (C) in Licht- (□; 0.5 h vor Beendigung der Lichtphase) und Dunkelproben (■; 0.5 h vor Beendigung der Dunkelphase) von Blättern von unter HL (je links) und LL (je rechts) angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} + s$, n = 3). Man beachte die unterschiedliche Skalierung der y-Achsen für HL und LL!

Außer in den Pflanzen der #42 kam es während der Dunkelphase zu einer Abnahme der Zuckergehalte, d. h. zum Verbrauch bzw. Abtransport der Zucker. Jedoch liegen die Werte der relativen Mengen an abgebautem Zucker nicht so hoch wie die der Stärke und nur für die Werte der Saccharosegehalte waren die Unterschiede zwischen Licht- und Dunkelproben offensichtlich. Auffallend ist der in den LL-Pflanzen der SNN, 57 und #25 um das 1.3- bis 5.1fache höhere Anteil der in der Dunkelheit abgebauten bzw. abtransportierten Saccharose, Fructose und Glucose von der tagsüber akkumulierten Zuckermenge im Vergleich zu den HL-Pflanzen. Ob die Tendenz in den HL- und LL-Pflanzen der #42 zu einer Erhöhung der Gehalte an Fructose und Glucose und z. T. auch an Saccharose in den dunkeladaptierten Blättern auf eine Akkumulation dieser Zucker hinweisen könnte, ist statistisch nicht erwiesen. Zumindest scheint in dieser TF die Menge der nachts verbrauchten Zucker auf alle Fälle geringer zu sein als in den anderen Varianten (Abb. 33 A, B, C).

3.6.3 KOHLENSTOFF UND STICKSTOFF

In den Blättern der Tabakpflanzen war unter extremem Chl-Mangel der Gehalt sowohl an Kohlenstoff als auch an Stickstoff bis auf ca. 40 % (HL) bzw. 72 - 80 % (LL) der jeweiligen Kontrollwerte vermindert (Abb. 34). Bei einer Anzucht der Pflanzen unter $30 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ fanden sich in den Blättern der SNN, #57 und #25 ca. 1/3 bis 1/4 der Kohlen- und Stickstoffgehalte, die in denen der vergleichbaren Starklicht-Varianten gemessen wurden. In der #42 waren die Gehalte in den LL-Blättern aufgrund der unter HL stark verminderten Werte nur um 37 % (C) bzw. 31 % (N) niedriger als in der #42-HL, jedoch war auch hier der Unterschied mit $p < 0.001$ signifikant (Abb. 34).

Aus den errechneten relativen Gehalten von Kohlen- und Stickstoff an der Gesamt-Trockenmasse (Tab. 14) lässt sich mit sinkendem Chlorophyll-Gehalt in den TF eine Tendenz zur Reduzierung des C-Anteiles (bis um 17 %) bei gleichzeitiger Erhöhung des N-Anteiles (bis um 10 %) erkennen. Daraus ergaben sich unter extremem Chl-Defizit um bis zu 24 % geringere C/N-Verhältnisse (Tab. 14). LL-Bedingungen während der Anzucht bewirkten im Vergleich zu HL-Bedingungen eine um bis zu 20 % stärkere Akkumulation von N pro TM und eine um bis zu 17 % verminderte relative Akkumulation von C, was sich letztendlich in signifikant niedrigeren C/N-Verhältnissen widerspiegelte (Tab. 14).

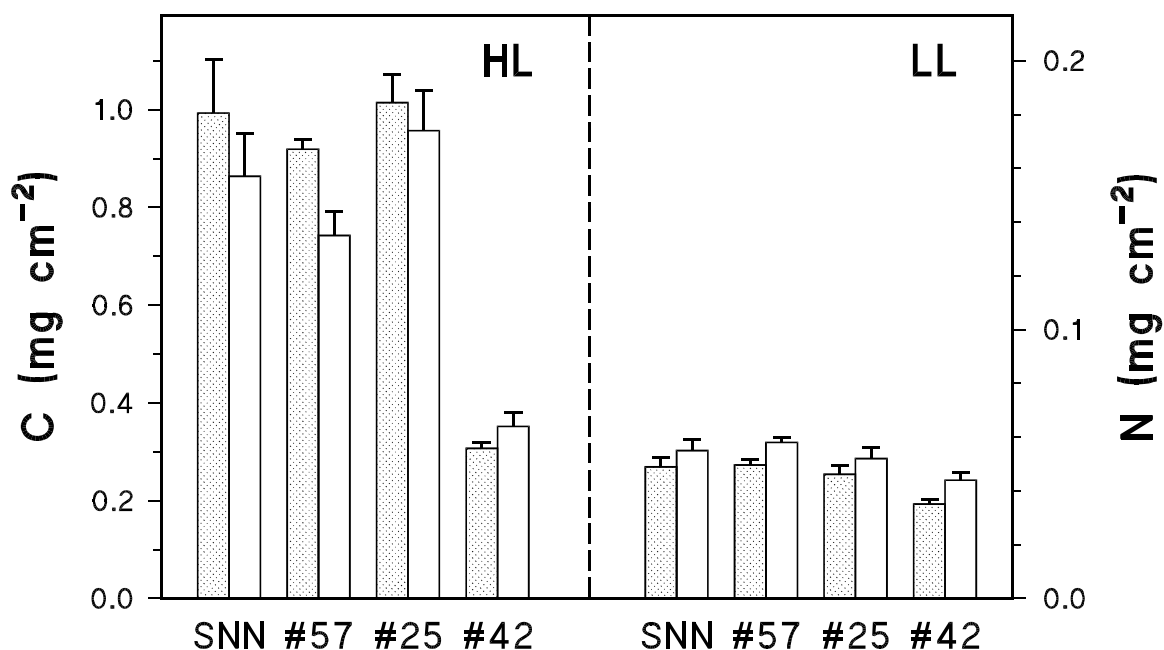


Abb. 34 Kohlenstoff- (C, ■; in mg cm^{-2} ; linke y-Achse) und Stickstoffgehalt (N, □; in mg cm^{-2} ; rechte y-Achse) in Blättern von unter HL (links) und LL (rechts) angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} + s$, $n = 9 - 16$).

Tab. 14 Anteil von Kohlenstoff (% C) und Stickstoff (% N) an der Gesamttrockenmasse sowie C/N-Verhältnis in Blättern von unter HL und LL angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} \pm s$, $n = 9 - 16$). Der t-Test wurde für den Vergleich der TF zum WT (I) sowie den Vergleich der LL- mit den HL-Varianten (II) durchgeführt.

Variante	% C	t-Test		% N	t-Test		C/N	t-Test	
		I	II		I	II		I	II
HL SNN	38.5 ± 4.3			6.09 ± 0.63			6.35 ± 0.74		
	40.3 ± 0.9	–		5.91 ± 0.41	–		6.86 ± 0.64	–	
	38.4 ± 2.2	–		6.59 ± 0.55	+		5.88 ± 0.79	–	
	32.0 ± 1.3	+++		6.68 ± 0.54	+		4.80 ± 0.45	+++	
LL SNN	32.8 ± 2.4		+++	6.69 ± 0.51		+	4.90 ± 0.15		+++
	33.4 ± 1.4	–	+++	7.11 ± 0.22	++	+++	4.70 ± 0.28	+	+++
	31.8 ± 2.3	–	+++	6.56 ± 0.56	–	–	4.88 ± 0.50	–	++
	30.7 ± 1.4	+	+	7.04 ± 0.48	–	–	4.37 ± 0.18	+++	+

3.6.4 PROTEINE

In den transgenen Pflanzen, die unter $300 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ aufgezogen wurden, war der Gehalt an löslichem Protein bis auf 44 % des in den WT-Blättern gefundenen Wertes vermindert. Im Vergleich der unter LL angezogenen Tabak-Pflanzen untereinander konnte kein signifikanter Unterschied gefunden werden. Die Verringerung der Proteingehalte in den LL-Varianten um 84 % (SNN) bis 56 % (#42) gegenüber den HL-Pflanzen war mit $p < 0.001$ signifikant (Abb. 35).

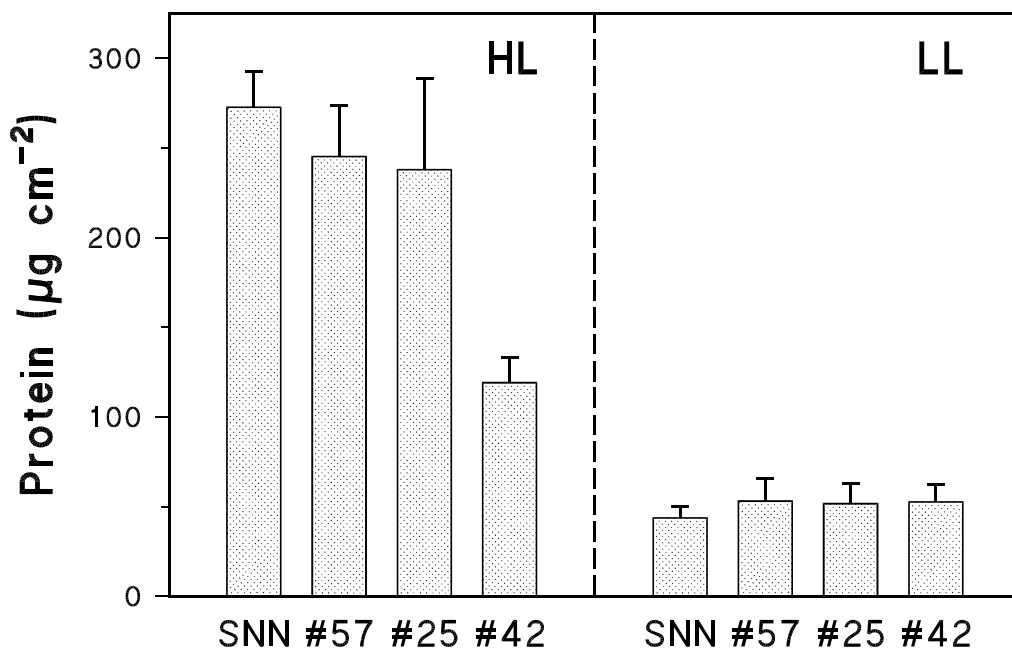


Abb. 35 Gehalt an löslichem Protein (in $\mu\text{g cm}^{-2}$) in Blättern von unter HL (links) und LL (rechts) angezogenen Tabakpflanzen der SNN, #57, #25 und #42 ($\bar{x} + s$, $n \geq 4$).

4 DISKUSSION

4.1 VON DER LICHTENERGIE ZUM WACHSTUM

4.1.1 ZUR HIERARCHIE DER MIT DER PHOTOSYNTHESE VERBUNDENEN PROZESSE

Ausgehend von den Beobachtungen von Aristoteles im 4. Jhd. v. u. Z., von van Helmont und Woodward in den Jahren 1634 bzw. 1699 sowie von Hales, Tull, Priestley und Ingen-Housz im 18. Jhd., dass eine grüne Pflanze zum Wachsen, d. h. zur Bildung von organischer Masse, Wasser, Erde, Luft und Licht benötigt (HOFFMANN, 1987; POLEVOI, 1989; HÖXTERMANN, 1992), haben sich seitdem die Vorstellungen über die mit der Photosynthese zusammenhängenden Prozesse stark entwickelt. Der Weg vom Lichteinfang durch die chlorophyllhaltigen Organe über die komplexen Vorgänge in der Photosynthese - die im Licht zum Verbrauch von Wasser und Kohlendioxid, zur Freisetzung von Sauerstoff und zur Bildung von Zuckern und komplexen Assimilaten führen - bis hin zur Bildung und Akkumulation von Biomasse und damit letztendlich zum Wachstum ist eine komplizierte, durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflussbare, mit vielen anderen metabolischen Abläufen in Wechselwirkung stehende, in Zeit und Raum hierarchisch geordnete Gesamtheit von Prozessen.

In Abb. 36 ist ein stark vereinfachtes Schema der von der Aufnahme des Lichtes bis zum Wachstum in Bezug zu und in Wechselwirkung mit der Photosynthese ablaufenden und unmittelbar zusammenhängenden Faktoren und Prozesse dargestellt. Diese wurden aus der Vielzahl der für das Pflanzenwachstum wichtigen Stoffwechselwege ausgewählt, da erstens die Photosynthese die Hauptantriebskraft für das Pflanzenwachstum, die Produktivität und den Ertrag ist (LAWLOR, 1990). Zweitens stellen diese Prozesse die Betrachtungsgrundlage für die erhaltenen Ergebnisse in der folgenden Diskussion dar.

Die Prozesse auf den unteren Hierarchieebenen (im oberen Teil der Abb. 36 dargestellt) - z. B. die Lichtabsorption - laufen in kürzesten Zeitintervallen (nsec bis fsec) und in begrenzten (Sub)Kompartimenten ab und stehen mit einer geringeren Anzahl von anderen Prozessen in Wechselwirkung. In und zwischen diesen Vorgängen spielen Energieflüsse eine wesentliche Rolle. Die auf den höheren Ebenen der Hierarchie (im unteren Teil der Abb. 36 dargestellt) betrachteten Prozesse - z. B. das Wachstum - laufen in Zeitmaßstäben bis zu Jahren ab, schließen alle Kompartimente der pflanzlichen Zelle sowie alle Pflanzenteile ein und stehen mit einer Vielzahl von biochemischen und physiologischen Abläufen in Wechselwirkung. Bei diesen Prozessen stehen die Flüsse von Substraten gegenüber denen von Energie im Vordergrund. Damit nimmt die Komplexität der Prozesse in Raum und Zeit mit der Hierarchieebene zu. Im folgenden Kapitel sollen die im Kap. 3 aufgeführten Analysenwerte den in Abb. 36

dargestellten Abläufen zugeordnet werden, so dass die Auswirkung der untersuchten Stressoren (Licht- bzw. Chl-Mangel) auf die jeweiligen Prozesse sowie existierende Zusammenhänge deutlich werden.

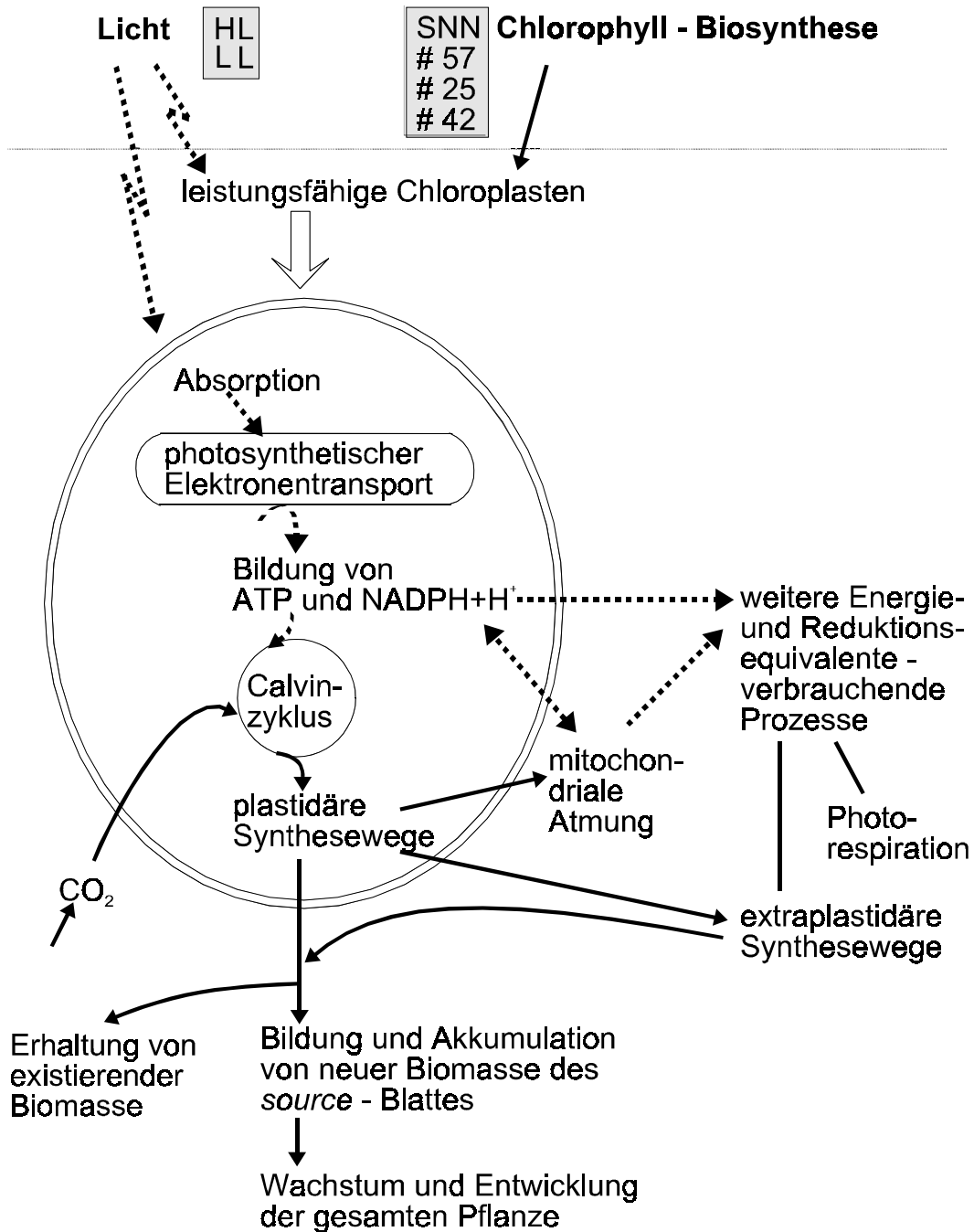


Abb. 36 Schematische Darstellung der grundsätzlichen, von der Lichtabsorption bis zum Wachstum ablaufenden und mit der Photosynthese verbundenen Prozesse sowie die zwischen ihnen existierenden wesentlichen Energie- (.....▶) und Substratflüsse (————▶) (in Anlehnung an HOFFMANN (1987) und LAWLOR (1990)).

4.1.2 PHYSIOLOGISCHE UND MORPHOLOGISCHE VERÄNDERUNGEN BEI TABAKPFLANZEN INFOLGE VON LICHT- BZW. CHLOROPHYLL-MANGEL

Es ist in der Literatur eine große Anzahl von Studien zu finden, die unter den verschiedensten Gesichtspunkten und Fragestellungen einerseits den Einfluss der Lichtquantität auf die eine oder andere Charakteristik des pflanzlichen Metabolismus (Lit. bei BOARDMAN, 1977; WILD, 1979; BJÖRKMAN, 1981; LICHTENTHALER *et al.*, 1981 und 1982; BARBER und BAKER, 1985; STRASSER *et al.*, 1996) und andererseits den Zusammenhang zwischen Chlorophyllgehalt bzw. -synthese und den verschiedensten Stoffwechselfparametern (MICHAEL, 1954; ŠESTÁK, 1981 und 1985; OSSWALD und ELSTNER, 1986; VON WETTSTEIN *et al.*, 1995) untersuchten. Im vorliegenden Kapitel soll zunächst die Frage geklärt werden, ob und mit welcher Tendenz ein Einfluss von Lichtmangel während der Anzucht sowie von genetisch verursachter Chlorophylldefizienz auf die in Abb. 36 dargestellten Prozesse vorliegt.

In den Tab. 15 und 16 sind ausgewählte eigene und Literaturdaten zu Veränderungen von Parametern des pflanzlichen Stoffwechsels unter Licht- (Tab. 15) bzw. Chlorophyllmangel (Tab. 16) aufgeführt. Dabei wurden nur solche Literaturdaten berücksichtigt, die einen Vergleich mit den in dieser Arbeit erhaltenen Ergebnissen durch vergleichbare Anzuchtbedingungen (Lichtquantität und -qualität, Temperatur, ausreichende Wasser- und Nährstoffversorgung etc.), vergleichbare Physiologie der Pflanzen (C_3 -Typ, Lichtbedürftigkeit/Schatten- oder Sonnenarten etc.) sowie vergleichbare Messbedingungen und Bezugswerte (hier v. a. Blattfläche) zulassen. Jedoch ist die Vielzahl der Unterschiede v. a. zwischen HL- und LL-Pflanzen *species*-abhängig und Beobachtungen von einer Art können selten direkt auf andere Arten übertragen werden (NIKOLAEVA, 1994). Bei den HL-LL-Versuchen muss zudem genauestens beachtet werden, ob es sich bei dem jeweiligen experimentellen Ansatz für die jeweilige Pflanzenart um ein Modell zur Untersuchung von exzessivem im Vergleich zum Normallicht handelt oder eher um eines zur vergleichenden Studie von Normallicht und Lichtmangel. Die in dieser Arbeit gewählten Anzucht-PPFD's von 300 bzw. 30 $\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ stellen für die Pflanzen von *Nicotiana tabacum* Bedingungen von Normallicht bzw. Lichtmangel dar, da einerseits Tabak von Natur aus eher zu den Sonnenpflanzen zu zählen ist (ENDEMANN, 1954) und somit 300 $\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ bei weitem keine überoptimalen Photonenflussdichten darstellen, andererseits 20 $\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ als die untere Grenze für die Entwicklung von vaskulären Pflanzen einschließlich obligater Schattenspecies angesehen wird (GLOSER und GLOSER, 1996). unter Labor-Anzuchtbedingungen liegt der Wirkung von natürlichen Schattenbedingungen zudem immer ein nicht trennbarer komplexer Einfluss von Lichtquantität und -qualität zugrunde (DALE, 1988; ANDERSON *et al.*, 1995).

Tab. 15 Ausgewählte Literatur- und eigene Daten zur Auswirkung von LL-Bedingungen während der Anzucht auf Parameter und Prozesse des pflanzlichen Metabolismus im Vergleich zu HL-Anzuchtbedingungen. Die Umrechnung der verschiedenen in der Literatur angegebenen photophysikalischen Einheiten in $\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ erfolgte nach WALTER und HOFFMANN (1988). Die Pfeile stellen eine Verringerung (↓) bzw. Erhöhung (↑) des Parameters in den LL- im Vergleich zu den HL-Pflanzen dar; in den Klammern ist der LL-Wert als % des HL-Wertes angegeben.

Parameter [Bedingung/Bezugsgröße]	Pflanzenart und Anzucht-PPFD [$\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$]	HL/LL	Vergleich LL mit HL	Literatur
Chl (a+b)-Gehalt [pro Fläche]	<ul style="list-style-type: none"> ♦ <i>Tradescantia albiflora</i> ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> (SNN) ♦ <i>Nicotiana sylvestris</i> (WT) ♦ <i>Vicia faba</i> ♦ <i>Sinapis alba</i> ♦ <i>Fagus crenata</i> 	225/25 300/30 240/50 500/50 300/30 440/30	↓ (43) ↓ (53) ↓ (61) ↓ (73) ↓ (77) ↓ (90)	ADAMSON <i>et al.</i> , 1991 vorl. Arbeit, Abb. 6 EICHELMANN, LAISK, 1994 NIKOLAEVA, 1994 RÜHLE und WILD, 1985 LIANG <i>et al.</i> , 1995
Chl a/b-Verhältnis	<ul style="list-style-type: none"> ♦ <i>Sinapis alba</i> ♦ <i>Raphanus sativus</i> ♦ <i>Schefflera arboricola</i> ♦ <i>Vinca major</i> ♦ <i>Vicia faba</i> ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> (SNN) ♦ <i>Fagus crenata</i> ♦ <i>Tradescantia albiflora</i> 	300/30 275/25 1200/20 1200/100 500/50 300/30 440/30 225/25	↓ (73) ↓ (78-83) ↓ (82) ↓ (86) ↓ (86) ↓ (88) ↓ (91) ↓ (96)	RÜHLE und WILD, 1985 LICHTENTHALER <i>et al.</i> , 1981 GRACE und LOGAN, 1996 GRACE und LOGAN, 1996 NIKOLAEVA, 1994 vorl. Arbeit, Abb. 6 LIANG <i>et al.</i> , 1995 ADAMSON <i>et al.</i> , 1991
^{a)} JCO₂ bei Anzuchtlicht bzw. ^{b)} max. JCO₂ (bei sättigendem Licht) [bei natürl. CO ₂ - und O ₂ -Gehalten der Luft; pro Fläche und Zeit]	<ul style="list-style-type: none"> ♦ <i>Fagus crenata</i> ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> (SNN) ♦ <i>Hydrocotyle bonariensis</i> ♦ <i>Sinapis alba</i> ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> (SNN) ♦ <i>Nicotiana sylvestris</i> (WT) ♦ <i>Fagus crenata</i> ♦ <i>Raphanus sativus</i> ♦ <i>Hydrocotyle bonariensis</i> ♦ <i>Vicia faba</i> ♦ <i>Hydrocotyle bonariensis</i> 	440/30 300/30 1110/110 500/15 300/30 240/50 440/30 275/25 260/64 500/50 1110/110	↓ (5) ^{a)} ↓ (13) ^{a)} ↓ (26) ^{a)} ↓ (32) ^{b)} ↓ (41) ^{b)} ↓ (44) ^{b)} ↓ (45) ^{b)} ↓ (52) ^{b)} ↓ (53) ^{b)} ↓ (63) ^{b)} ↓ (63-69) ^{b)}	LIANG <i>et al.</i> , 1995 vorl. Arbeit, Abb. 24A LONGSTRETH <i>et al.</i> , 1981 WILD und HÖHLER, 1978 vorl. Arbeit, Tab. 7 EICHELMANN, LAISK, 1994 LIANG <i>et al.</i> , 1995 LICHTENTHALER <i>et al.</i> , 1981 LONGSTRETH <i>et al.</i> , 1981 NIKOLAEVA, 1994 LONGSTRETH <i>et al.</i> , 1981
R_D [bei natürl. CO ₂ - und O ₂ -Gehalten der Luft; pro Fläche und Zeit]	<ul style="list-style-type: none"> ♦ <i>Raphanus sativus</i> ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> (SNN) ♦ <i>Calamagrostis arundinacea</i> ♦ <i>Fagus crenata</i> 	300/30 300/30 200/25 440/30	↓ (24) ↓ (37) ↓ (49) ↓ (76)	RÜHLE und WILD, 1985 vorl. Arbeit, Abb. 23 GLOSER und GLOSER, 1996 LIANG <i>et al.</i> , 1995
^{c)} LKP bzw. ^{d)} LSP [bei natürl. CO ₂ - und O ₂ -Gehalten der Luft]	<ul style="list-style-type: none"> ♦ <i>Raphanus sativus</i> ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> (SNN) ♦ <i>Fagus crenata</i> ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> (SNN) ♦ <i>Raphanus sativus</i> ♦ <i>Fagus crenata</i> ♦ <i>Hydrocotyle bonariensis</i> 	300/30 300/30 440/30 300/30 300/30 440/30 1110/110	↓ (22) ^{c)} ↓ (30) ^{c)} ↓ (77) ^{c)} ↓ (36) ^{d)} ↓ (40) ^{d)} ↓ (54) ^{d)} ↓ (54) ^{d)}	RÜHLE und WILD, 1985 vorl. Arbeit, Tab. 7 LIANG <i>et al.</i> , 1995 vorl. Arbeit, Tab. 7 RÜHLE und WILD, 1985 LIANG <i>et al.</i> , 1995 LONGSTRETH <i>et al.</i> , 1981
gH₂O [bei natürl. CO ₂ - und O ₂ -Gehalten und Anzucht-PPFD; pro Fläche und Zeit]	<ul style="list-style-type: none"> ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> (SNN) ♦ <i>Fagus crenata</i> ♦ <i>Hydrocotyle bonariensis</i> 	300/30 440/30 1110/110	↓ (38) ↓ (41) ↓ (84)	vorl. Arbeit, Abb. 24B LIANG <i>et al.</i> , 1995 LONGSTRETH <i>et al.</i> , 1981

Fortsetzung der Tab. 15

Parameter [Bedingung/Bezugsgröße]	Pflanzenart und Anzucht-PPFD [μmol Quanten m ⁻² s ⁻¹]	Vergleich LL - HL	Literatur
Stomataanzahl [pro Fläche]	♦ <i>Nicotiana tabacum</i> (SNN) 300/30 ♦ <i>Sinapis alba</i> 300/30 ♦ <i>Fagus crenata</i> 440/30 ♦ <i>Triticum aestivum</i> 450/50	↓ (35-36) ↓ (42-60) ↓ (56) ↓ (90-95)	vorl. Arbeit, Abb. 13 RÜHLE und WILD, 1985 LIANG <i>et al.</i> , 1995 LICHTENTHALER <i>et al.</i> , 1981
Stärkegehalt [pro Fläche]	♦ <i>Nicotiana tabacum</i> (SNN) 300/30 ♦ <i>Triticum aestivum</i> 450/50 ♦ <i>Trifolium repens</i> 450/140	↓ (12) ↓ (11-17) ↓ (47)	vorl. Arbeit, Abb. 32 LICHTENTHALER <i>et al.</i> , 1981 MALINOWSKI <i>et al.</i> , 1998
Gehalt an lösl. Protein [pro Fläche]	♦ <i>Sinapis alba</i> 500/15 ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> (SNN) 300/30 ♦ <i>Sinapis alba</i> 300/30	↓ (13) ↓ (16) ↓ (32)	WILD und HÖHLER, 1978 vorl. Arbeit, Abb. 35 RÜHLE und WILD, 1985
Gehalt an ^{e)} C bzw. ^{f)} N [pro Fläche]	♦ <i>Nicotiana tabacum</i> (SNN) 300/30 ♦ <i>Fagus crenata</i> 440/30 ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> (SNN) 300/30 ♦ <i>Fagus crenata</i> 440/30	↓ (27) ^{e)} ↓ (41) ^{e)} ↓ (35) ^{f)} ↓ (41) ^{f)}	vorl. Arbeit, Abb. 34 LIANG <i>et al.</i> , 1995 vorl. Arbeit, Abb. 34 LIANG <i>et al.</i> , 1995
^{g)} spez. FM bzw. ^{h)} spez. TM des Blattes [pro Fläche]	♦ <i>Tradescantia albiflora</i> 225/25 ♦ <i>Sinapis alba</i> 500/15 ♦ <i>Nicotiana sylvestris</i> (WT) 240/50 ♦ <i>Sinapis alba</i> 300/30 ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> (SNN) 300/30 ♦ <i>Trifolium repens</i> 450/140 ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> (SNN) 300/30 ♦ <i>Fagus crenata</i> 440/30 ♦ <i>Vicia faba</i> 500/50 ♦ <i>Nicotiana sylvestris</i> (WT) 240/50	↓ (43) ^{g)} ↓ (44) ^{g)} ↓ (64) ^{g)} ↓ (68) ^{g)} ↓ (71) ^{g)} ↓ (27-34) ^{h)} ↓ (32) ^{h)} ↓ (43) ^{h)} ↓ (55) ^{h)} ↓ (63) ^{h)}	ADAMSON <i>et al.</i> , 1991 WILD und HÖHLER, 1978 EICHELMANN, LAISK, 1994 RÜHLE und WILD, 1985 vorl. Arbeit, Tab. 5 MALINOWSKI <i>et al.</i> , 1998 vorl. Arbeit, Tab. 5 LIANG <i>et al.</i> , 1995 NIKOLAEVA, 1994 EICHELMANN, LAISK, 1994
ⁱ⁾ Blatt- bzw. ^{k)} Mesophylldicke	♦ <i>Plectranthus parviflorus</i> 590/13 ♦ <i>Triticum aestivum</i> 450/50 ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> (SNN) 300/30 ♦ <i>Hydrocotyle bonariensis</i> 1110/110	↓ (30) ⁱ⁾ ↓ (55-75) ⁱ⁾ ↓ (76) ⁱ⁾ ↓ (75) ^{k)}	NOBEL <i>et al.</i> , 1975 LICHTENTHALER <i>et al.</i> , 1981 vorl. Arbeit, Abb. 14 LONGSTRETH <i>et al.</i> , 1981
Blattfläche	♦ <i>Raphanus sativus</i> 275/25 ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> (SNN) 300/30 ♦ <i>Tradescantia albiflora</i> 225/25 ♦ <i>Vicia faba</i> 250/50	↓ (46-59) ↓ (64) ↓ (73) ↓ (92)	LICHTENTHALER <i>et al.</i> , 1981 vorl. Arbeit, Abb. 12 ADAMSON <i>et al.</i> , 1991 NIKOLAEVA, 1994
Pflanzenhöhe	♦ <i>Fagus crenata</i> 440/30 ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> (SNN) 300/30	↓ (40) ↓ (87)	LIANG <i>et al.</i> , 1995 vorl. Arbeit, Abb. 8
Wachstumsdauer ^{l)} eines Blattes bis 100 % Ar; ^{m)} der Pflanze bis zur Blüte	♦ <i>Nicotiana tabacum</i> (SNN) 1110/110 ♦ <i>Hydrocotyle bonariensis</i> 500/15 ♦ <i>Sinapis alba</i> 300/30	↑ (115) ^{l)} ↑ (133) ^{l)} ↑ (261) ^{m)}	vorl. Arbeit, Abb. 12 LONGSTRETH <i>et al.</i> , 1981 WILD und HÖHLER, 1978

Bei Chlorophyll-Defizienz hängen die Art und Stärke der Ausprägung des Phänotyps und die damit verbundenen physiologischen Veränderungen außer vom Genotyp auch von den Kulturbedingungen wie dem Licht-, Temperatur- und Nährstoffangebot ab (s. ESKINS *et al.*, 1991; HÖFGEN *et al.*, 1994; FALBEL *et al.*, 1996). Demzufolge können die erzielten Ergebnisse auch nur im Rahmen der im Kap. 2.1 beschriebenen Anzuchtbedingungen diskutiert werden. Die Zuordnung von *Nicotiana tabacum* zu den Sonnenpflanzen wird auch durch die Existenz von toten Blatthaaren (Pubeszenz) unterstützt, da diese bei hohen Lichtintensitäten die Oberflächenreflexion erhöhen und den Wasserverlust einschränken können (RÜHLE und WILD, 1985; BOLHÁR-NORDENKAMPF und DRAXLER, 1993; ESCHRICH, 1995; STRASSER *et al.*, 1996). Desweiteren ist wichtig, zwischen Versuchen mit Sonnen- (bzw. HL-) und Schatten- (bzw. LL-) Blättern einer Pflanze und Versuchen mit Sonnen- (bzw. HL-) und Schatten- (bzw. LL-) Pflanzen zu unterscheiden, da die Schattenblätter einer Pflanze z. T. die in den Sonnenblättern synthetisierten Assimilate nutzen und damit gänzlich andere Charakteristika als Schattenpflanzen entwickeln (s. LICHTENTHALER *et al.*, 1981). Im Vergleich zu Schwachlicht unter Labor-Anzuchtbedingungen liegt der Wirkung von natürlichen Schattenbedingungen zudem immer ein nicht trennbarer komplexer Einfluss von Lichtquantität und -qualität zugrunde (DALE, 1988; ANDERSON *et al.*, 1995). Bei Chlorophyll-Defizienz hängen die Art und Stärke der Ausprägung des Phänotyps und die damit verbundenen physiologischen Veränderungen außer vom Genotyp auch von den Kulturbedingungen wie dem Licht-, Temperatur- und Nährstoffangebot ab (s. ESKINS *et al.*, 1991; HÖFGEN *et al.*, 1994; FALBEL *et al.*, 1996). Demzufolge können die erzielten Ergebnisse auch nur im Rahmen der im Kap. 2.1 beschriebenen Anzuchtbedingungen diskutiert werden.

Tab. 16 Ausgewählte Literatur- und eigene Daten zur Auswirkung von Chl-Mangel in Mutanten bzw. Transformanten auf Parameter und Prozesse des pflanzlichen Metabolismus im Vergleich zum Wildtyp. Die Pfeile stellen eine Verringerung (↓) bzw. Erhöhung (↑) des Parameters in den Mu/TF im Vergleich zu den WT-Pflanzen dar; in den Klammern ist der Mu/TF-Wert als % des WT-Wertes angegeben.

Parameter [Bedingung/ Bezugsgröße]	Pflanzenart - Art des Chl-Mangels (Chl (a+b)-Gehalt der Mu/TF in % vom WT [pro Fläche])	Vergleich Mu/TF mit WT	Literatur
Chl a/b-Verhältnis	♦ <i>Nicotiana tabacum</i> - TF #42 (HL) 8	⬆ (117)	vorl. Arbeit, Abb. 6
	♦ <i>N. tabacum</i> - <i>Su/su-aurea</i> -Mu 60	⬆ (135)	HABASH <i>et al.</i> , 1994
	♦ <i>N. tabacum</i> - <i>Su/su-aurea</i> -Mu 42	⬆ (135)	SCHINDLER <i>et al.</i> , 1994
	♦ <i>Glycine max</i> - <i>Y₁₁Y₁₁</i> -Mangel-Mu 27	⬆ (186)	ŠANTRUCEK <i>et al.</i> , 1992
	♦ <i>Vigna unguiculata</i> - Mangel-Mu 19	⬆ (275-511)	XU <i>et al.</i> , 1993

Fortsetzung der Tab. 16

Parameter [Bedingung/ Bezugsgröße]	Pflanzenart - Art des Chl-Mangels (Chl (a+b)-Gehalt der Mu/TF in % vom WT [pro Fläche])	Vergleich Mu/TF mit WT	Literatur
Φ_{app} [bei natürl. CO ₂ - und O ₂ -Gehalten der Luft; pro (mol Quanten)]	<ul style="list-style-type: none"> ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> - TF #42 (HL) 8 ♦ <i>Glycine max</i> - Y₁₁Y₁₁-Mangel-Mu 19 ♦ <i>Vigna unguiculata</i> - Mangel-Mu 60 	<ul style="list-style-type: none"> ↓ (46) ↓ (69-78) ↓ (83) 	vorl. Arbeit, Tab. 8 XU <i>et al.</i> , 1993 HABASH <i>et al.</i> , 1994
^{a)} JCO ₂ bei Anzuchtlicht bzw. ^{b)} max. JCO ₂ (bei sättigendem Licht) [bei natürl. CO ₂ - und O ₂ - Gehalten der Luft; pro Fläche und Zeit]	<ul style="list-style-type: none"> ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> - TF #42 (HL) 8 ♦ <i>Philadelphus pubescens</i> - var. <i>aureus</i> 35 ♦ <i>Quercus robur</i> - var. <i>concordia</i> 22 ♦ <i>Ulmus glabra</i> - var. <i>lutescens</i> 13 ♦ <i>Chamaecyparis pisifera</i> - var. <i>aurea</i> 16 ♦ <i>Glycine max</i> - y9y9-Mangel-Mu 27 ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> - TF #42 (HL) 8 ♦ <i>Glycine max</i> - Y₁₁Y₁₁-Mangel-Mu 19 ♦ <i>Hordeum vulgare</i> - chlorina-f2-Mu 42 	<ul style="list-style-type: none"> ↓ (34) ^{a)} ↓ (53-64) ^{a)} ↓ (56-86) ^{a)} ↓ (72-84) ^{a)} ↓ (77-89) ^{a)} ↓ (81-94) ^{a)} ↓ (21) ^{b)} ↓ (74-90) ^{b)} ↓ (79) ^{b)} 	vorl. Arbeit, Abb. 24A MICHAEL, 1954 MICHAEL, 1954 MICHAEL, 1954 MICHAEL, 1954 LUQUEZ <i>et al.</i> , 1997 vorl. Arbeit, Tab. 7 XU <i>et al.</i> , 1993 LEVERENZ <i>et al.</i> , 1992
R _D [bei natürl. CO ₂ - und O ₂ - Gehalten der Luft; pro Fläche und Zeit]	<ul style="list-style-type: none"> ♦ <i>Corylus avellana</i> - var. <i>aurea</i> 28 ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> - TF #42 (HL) 8 ♦ <i>Chamaecyparis pisifera</i> - var. <i>aurea</i> 16 ♦ <i>N. tabacum</i> - Su/su-aurea-Mu 27 ♦ <i>Quercus robur</i> - var. <i>concordia</i> 22 ♦ <i>Philadelphus pubescens</i> - var. <i>aureus</i> 35 ♦ <i>Ulmus glabra</i> - var. <i>lutescens</i> 13 	<ul style="list-style-type: none"> ↓ (40) ↓ (59) ↓ (64) ↓ (67) ↓ (73) ↓ (83) ↓ (91) 	MICHAEL, 1954 vorl. Arbeit, Abb. 23 MICHAEL, 1954 ŠANTRUCEK <i>et al.</i> , 1992 MICHAEL, 1954 MICHAEL, 1954 MICHAEL, 1954
LSP [bei natürl. CO ₂ - und O ₂ -Gehalten d. Luft]	<ul style="list-style-type: none"> ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> - TF #42 (HL) 8 ♦ <i>Hordeum vulgare</i> - chlorina-f2-Mu 42 	<ul style="list-style-type: none"> ↓ (46) ↓ (73) 	vorl. Arbeit, Tab. 7 LEVERENZ <i>et al.</i> , 1992
gH ₂ O [bei natürl. CO ₂ - und O ₂ -Gehalten der Luft und Anzucht-PPFD; pro Fläche und Zeit]	<ul style="list-style-type: none"> ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> - TF #42 (HL) 8 ♦ <i>Glycine max</i> - Y₁₁Y₁₁-Mangel-Mu 19 ♦ <i>Glycine max</i> - y9y9-Mangel-Mu 27 	<ul style="list-style-type: none"> ↑ (104) ↑ (100-131) ↑ (143-158) 	vorl. Arbeit, Abb. 24B XU <i>et al.</i> , 1993 LUQUEZ <i>et al.</i> , 1997
^{a)} spez. FM bzw. ^{b)} TM [pro Fläche]	<ul style="list-style-type: none"> ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> - TF #42 (HL) 8 ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> - TF #42 (HL) 8 ♦ <i>Glycine max</i> - Y₁₁Y₁₁-Mangel-Mu 19 ♦ <i>N. tabacum</i> - Su/su-aurea-Mu 27 	<ul style="list-style-type: none"> ↓ (81) ^{a)} ↓ (37) ^{b)} ↓ (50) ^{b)} ↓ (55) ^{b)} 	vorl. Arbeit, Tab. 5 vorl. Arbeit, Tab. 5 XU <i>et al.</i> , 1993 ŠANTRUCEK <i>et al.</i> , 1992
rel. Wassergehalt	<ul style="list-style-type: none"> ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> - TF #42 (HL) 8 ♦ <i>Glycine max</i> - y9y9-Mangel-Mu 27 	<ul style="list-style-type: none"> ↑ (107) ↑ (107) 	vorl. Arbeit, Tab. 5 LUQUEZ <i>et al.</i> , 1997
Blattdicke	<ul style="list-style-type: none"> ♦ <i>Philadelphus pubescens</i> - var. <i>aureus</i> 35 ♦ <i>Quercus robur</i> - var. <i>concordia</i> 22 ♦ <i>Corylus avellana</i> - var. <i>aurea</i> 28 ♦ <i>Chamaecyparis pisifera</i> - var. <i>aurea</i> 16 ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> - TF #42 (HL) 8 	<ul style="list-style-type: none"> ↓ (82-87) ↓ (86) ↓ (88-94) ↓ (93) ↓ (98) 	MICHAEL, 1954 MICHAEL, 1954 MICHAEL, 1954 MICHAEL, 1954 vorl. Arbeit, Abb. 14
Blattfläche	<ul style="list-style-type: none"> ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> - TF #42 (HL) 8 ♦ <i>Quercus robur</i> - var. <i>concordia</i> 22 ♦ <i>N. tabacum</i> - Su/su-aurea-Mu 42 	<ul style="list-style-type: none"> ↓ (73) ↓ (57-62) ↓ (75) 	vorl. Arbeit, Abb. 12 MICHAEL, 1954 SCHINDLER <i>et al.</i> , 1994
Pflanzenhöhe	<ul style="list-style-type: none"> ♦ <i>Corylus avellana</i> - var. <i>aurea</i> 28 ♦ <i>Philadelphus pubescens</i> - var. <i>aureus</i> 35 ♦ <i>Nicotiana tabacum</i> - TF #42 (HL) 8 ♦ <i>Ulmus glabra</i> - var. <i>lutescens</i> 13 ♦ <i>Chamaecyparis pisifera</i> - var. <i>aurea</i> 16 ♦ <i>Quercus robur</i> - var. <i>concordia</i> 22 	<ul style="list-style-type: none"> ↓ (38) ↓ (55) ↓ (62) ↓ (73) ↓ (82) ↓ (91) 	MICHAEL, 1954 MICHAEL, 1954 vorl. Arbeit, Abb. 8 MICHAEL, 1954 MICHAEL, 1954 MICHAEL, 1954

Wie aus den Tab. 15 und 16 hervorgeht, bewirken sowohl eine verringerte Anzucht-Lichtintensität als auch eine genetisch bedingte Reduzierung des Chl-Gehaltes eine Modifizierung vieler Parameter und Prozesse auf den verschiedenen hierarchischen Niveaus des pflanzlichen Metabolismus. Dabei wird deutlich, dass beide Mangelbedingungen zu einer generellen Absenkung bzw. Verlangsamung der betrachteten Stoffwechselprozesse führen. Die im Gegensatz hierzu von einigen Autoren (Lit. bei LICHTENTHALER *et al.*, 1981; LONGSTRETH *et al.*, 1981; HÖFT *et al.*, 1996; FURUKAWA, 1997) gefundene Erhöhung vor allem der gebildeten Blattfläche und des Chlorophyllgehaltes unter LL-Bedingungen im Vergleich zu HL entspricht den Beobachtungen an Blättern an Naturstandorten unter Sonnen- und Schattenbedingungen (LARCHER, 1994; FURUKUWA, 1997). Eine Erklärung des Widerspruchs ergibt sich hier aus der schon erwähnten Tatsache (S. 91 f.) der Relativität von HL/LL-Versuchen und der Vergleichbarkeit unterschiedlicher Versuchsbedingungen.

Für die beobachtete verminderte **photosynthetische CO₂-Assimilation** in den LL- (Abb. 19 und 24A, Tab. 15) bzw. transformierten Pflanzen (Abb. 19 und 24A, Tab. 16) ist eine Vielzahl von Faktoren verantwortlich.

Generell besteht bei Pflanzen unter Normal- und den meisten Stressbedingungen ein Problem eher darin, dass die Energie des eingestrahlt Lichtes im Überangebot vorhanden ist und somit die ET-Kapazität im Vergleich zum NADPH⁺H⁺- und ATP-Bedarf des photosynthetischen Stoffwechsels im Überschuss vorliegt (DI MARCO *et al.*, 1989; HELDT, 1996), da die Carboxylierungs-Reaktion der RubisC/O im Calvin-Zyklus im allgemeinen der limitierende und geschwindigkeitsbestimmende Schritt im gesamten Prozess der Photosynthese darstellt (HEBER *et al.*, 1988; KRAUSE, 1988; DI MARCO *et al.*, 1989; LAWLOR, 1990; HAAG und RENGGER, 1993; MUSCHAK, 1997). In Blättern von unter nicht limitierenden Freilandbedingungen angezogenen *Rhizophora stylosa* wurde z. B. nachgewiesen, dass der Elektronenfluss durch PSII den Elektronenverbrauch durch die Aktivitäten des Calvin-Zyklus um mehr als das dreifache überstieg, sogar unter Berücksichtigung photorespiratorischer Aktivitäten (CHEESEMAN *et al.*, 1997).

Im vorliegenden Versuchsansatz ist allerdings davon auszugehen, dass zumindest bei den extrem chl-armen TF sowie bei den LL-Pflanzen unter den gegebenen Bedingungen die niedrigeren CO₂-Aufnahmeraten (Abb. 19 und 24A) z. T. aus einem verminderten Energiefluss aus der Lichtreaktion der Photosynthese resultieren. Immerhin ist die Reduktion des CO₂ im C₃-Zyklus gegenüber alternativen Senken für NADPH⁺H⁺ und ATP der quantitativ überwiegende Prozess bei der Photosynthese (die NO₃⁻- und SO₄²⁻-Reduktion verbrauchen z. B. dagegen weniger als 5 % der photosynthetisch erzeugten Gesamtenergie; HOFFMANN, 1987; LAWLOR, 1990; GILMORE und BJÖRKMAN, 1994). Somit würde während der Anzucht der Energiefluss aus den Lichtreaktionen akklimatorisch die Kapazität der CO₂-Fixierungsprozesse des Calvin-Zyklus bedingen. In Übereinstimmung mit dieser Annahme gehen TERRY und FARQUHAR (1984) davon aus, dass auch die maximale Photosyntheserate der Blätter im Lichtsättigungsbereich bei der Aufnahme der Lichtabhängigkeitskurven der CO₂-Aufnahme noch streng mit der photochemischen Kapazität korreliert. Ebenso schreiben VON WILLERT *et al.* (1995), dass die maximale CO₂-Aufnahmerate neben anderen pflanzeninternen Prozessen von der blattflächenbezogenen Kapazität des photosynthetischen Elektronentransportes abhängt. Unter Schwachlichtbedingungen kann zwar eine relative Zunahme der äußeren LHC's der photosynthetischen Einheiten (indiziert durch ein verringertes Chlorophyll a/b-Verhältnis; Abb. 6) für eine höhere *light harvesting*-Kapazität der einzelnen Photosysteme sorgen (LICHTENTHALER *et al.*, 1981; MELIS *et al.*, 1985; SIEFERMANN-HARMS, 1985; ANDERSON *et al.*, 1995), jedoch stellt unter diesen Bedingungen die Lichtabsorption den limitierenden Faktor für die nachfolgenden Photosynthese-Prozesse dar (RÜHLE und WILD, 1985; MELIS *et al.*, 1985). Die durch die LL-Blätter absorbierte Lichtmenge liegt entsprechend dem um 90 % reduzierten Lichtangebot bei 8 bis 12 % derer durch die Blätter der HL-Varianten (Abb. 17). Dadurch ist die blattflächenbezogene nichtzyklische Elektronentransportrate geringer (BOARDMAN, 1977; LEEGOOD, 1993; GALL *et al.*, 1996) und die damit gekoppelte NADPH⁺H⁺- und ATP-Synthese begrenzt die Stoffwechselrate (LAWLOR, 1990; s. Kap. 4.2.2). Ersteres bestätigen die fluorometrisch bestimmten Elektronentransportraten der Tabak-Varianten unter Anzuchtlichtbedingungen (HANSEN, unpubliziert).

Eine Reduktion der Gesamtmenge an Chlorophyll pro Blattfläche unter Schwachlicht ist an eine Verringerung der Anzahl der photosynthetischen Einheiten pro Fläche gekoppelt, was als eine Adaptationsreaktion an das stark reduzierte Lichtangebot zu werten ist (GRAHL und WILD, 1972; HOFFMANN, 1987). Auch die Tabakpflanzen, die unter LL angezogen wurden, wiesen einen geringeren Chl-Gehalt (in mol cm⁻²; Abb. 6) gegenüber den HL-Pflanzen auf. Solch eine Abnahme des flächenbezogenen Chl-Gehaltes mit der Anzucht-Lichtintensität bei insgesamt

geringer Lichtquantität entspricht Ergebnissen von HANSEN (unpubliziert), die an Buchenblättern mit unterschiedlicher Lichtexposition innerhalb der Schattenkrone gewonnen wurden. Von anderen Autoren wurde bei Schatten- bzw. LL-Pflanzen ein infolge einer verringerten Lichtabsorption reduzierter Gehalt an Komponenten der ETK pro Chl-Einheit gefunden (LEONG und ANDERSON, 1984; MELIS *et al.*, 1985; LAWLOR, 1990; BURKEY, 1993; NIKOLAEVA, 1994).

Bei den chl-armen Pflanzen beruht der verminderte Substrat- und Energiefluss aus den Lichtreaktionen der Photosynthese vorrangig auf Modifikationen der Photosyntheseeinheiten, die letztendlich zu einem verringerten Absorptionsvermögen im Vergleich zum WT führen (Abb. 17). Zu gleichem Schluss kamen ADAMS *et al.* (1990) und LUQUEZ *et al.* (1997), die Chl-Differenzen an *Platanus occidentalis* bzw. *Glycine max* untersuchten. Ob dieses nun in den hier untersuchten Tabak-Varianten eher auf eine Reduzierung der komplett ausgebildeten Photosynthese-Einheiten pro Fläche oder/und auf eine Reduzierung der Antennengröße zurückzuführen ist, kann anhand der vorliegenden Daten nicht entschieden werden. Eine Reduzierung der vollständig ausgebildeten Photosynthese-Einheiten pro Fläche wurde z. B. für chl-defiziente Mutanten von *Glycine max* (XU *et al.*, 1993) und von *Hordeum vulgare* (HARRISON *et al.*, 1993) bzw. für unter $70 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ angezogene GSA-AT-TF von *Nicotiana tabacum* (HÄRTEL *et al.*, 1997) beschrieben. Eine Reduzierung der Antennengröße zeigten THIELEN und VAN GORKOM (1981) für gelbe *Su/su* (var. *aurea*)-Mutanten von *Nicotiana tabacum*, ESKINS *et al.* (1991) für gelbe *y9y9*-Mutanten von *Glycine max*, LEVERENZ *et al.* (1992) für chlorina f2-Mutanten von *Hordeum vulgare* sowie HABASH *et al.* (1994) für chl-defiziente Mutanten von *Vigna unguilata*.

Infolge einer Langzeitadaptation der Tabakpflanzen an die vorherrschende Chlorophyll- bzw. Lichtmangelsituation und somit an den limitierenden Energiefluss aus der photosynthetischen Lichtreaktion könnte die beobachtete verminderte CO_2 -Assimilation im Vergleich zu den Kontrollpflanzen aus einer *down*-Regulation nicht nur der ET-Leistung, sondern auch der mit dem Calvin-Zyklus verbundenen Aktivitäten resultieren. Darauf weisen u. a. die ebenfalls verringerten maximalen CO_2 -Aufnahmeraten unter sättigendem Messlicht hin (Abb. 19, Tab. 7), die zumindest für die LL-Pflanzen keine Einschränkung durch eine Limitierung der absorbierten Energie bedeuten. Der um 56 - 84 % reduzierte Gehalt an löslichen Proteinen in den LL-Pflanzen (Abb. 35) dürfte neben einer allgemeinen Verringerung der Enzymmengen, z. B.

der Nitratreduktase (WILD und ZERBE, 1977), Nitritreduktase und Glutaminsynthetase (RÜHLE und WILD, 1985), v. a. auf eine Reduzierung der RubisC/O-Proteinmenge zurückzuführen sein. Gleiches wurde durch Untersuchungen von RÜHLE und WILD (1985) an *Sinapis alba* bestätigt. Außerdem macht RubisC/O 40 bis 60 % der Gesamtproteinmenge in grünem, metabolisch aktivem Gewebe von C₃-Pflanzen aus (WILD und HÖHLER, 1978; LAWLOR, 1990; LEEGOOD, 1993; STRYER, 1995; ECKARDT *et al.*, 1997; TAIZ und ZEIGER, 1998). Primärblätter von unter 30 $\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ angezogenen Senf-Pflanzen beinhalteten 55 bis 70 % weniger Protein der großen RubisC/O-Untereinheit als die unter 300 $\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$, was mit einem Aktivitätsabfall der RubisC/O-Carboxylase um reichlich 50 % einherging (GALL *et al.*, 1996). Auch BOARDMAN (1977) und LICHTENTHALER *et al.* (1981) sehen als Hauptursache für verminderte CO₂-Aufnahmeraten unter Schwachlichtbedingungen den geringeren Proteingehalt von RubisC/O an.

Das gleiche könnte für die Chl-Mangel-Pflanzen unter HL mit 44 - 90 % der Menge an löslichem Protein des WT (Abb. 35) der Fall sein. ESKINS *et al.* (1991) fanden in gelben Sojabohnenmutanten eine um ca. 20 % geringere Akkumulation an RubisC/O-Protein als in Wildtyppflanzen, die in allen Pflanzen zudem noch, wie oben diskutiert, mit der Lichtintensität positiv korrelierte. Solch eine Verringerung der RubisC/O-Menge könnte hauptsächlich zu der Reduzierung der CO₂-Aufnahmeraten beitragen. WRIGHT *et al.* (1995) sprechen generell davon, dass verringerte Mengen von im Calvin-Zyklus wirkenden Enzymen zu einer *down*-Regulation desselben führen. Ein direkt proportionaler Zusammenhang zwischen RubisC/O-Gehalt und Photosyntheseraten wurde in chl-defizienten Pflanzen von *Glycine max* (JIANG *et al.*, 1997) und in verschiedenen Sojabohnenkultivaren (HESKETH *et al.*, 1981) gezeigt.

Außer dieser Regulation der RubisC/O über die Enzymmenge, die als Langzeitadaptation die wesentlichere Rolle in den durch Licht- bzw. Chl-Mangel gestressten Tabakpflanzen spielt, existiert weiterhin eine Regulationsmöglichkeit der RubisC/O über den Aktivierungszustand des Enzyms. Letzteres besitzt jedoch vorwiegend Bedeutung als eine durch Licht induzierte, reversible, kurzzeitige Anpassung (HAAG und RENGGER, 1993). Es ist bekannt, dass die *in-vivo*-Aktivität der RubisC/O, die übrigens sehr gut mit den Nettphotosyntheseraten korreliert (REYSS und PRIOUL, 1975; WILD und HÖHLER, 1978; XU *et al.*, 1993; JIANG und RODERMEL, 1995; JIANG *et al.*, 1997), durch eine RubisC/O-Aktivase reguliert wird (PORTIS *et al.*, 1986; ANDREWS *et al.*, 1995; HE *et al.*, 1997). Dabei spielt die ATP-Verfügbarkeit bzw. das

ATP/ADP-Verhältnis im Stroma eine entscheidende Rolle (s. S. 120). Solch ein Kontrollmechanismus könnte den Aktivierungszustand der RubisC/O und somit die CO₂-Assimilation in Abhängigkeit von der verfügbaren Lichtintensität und von anderen zellulären Prozessen regeln (STREUSAND und PORTIS, 1987; WOODROW und BERRY, 1988; JENSEN, 1990; LAWLOR, 1990; QUICK *et al.*, 1991). In den jüngsten Trifoliaten von *Glycine max*-Mutanten wurde infolge des Chl-Mangels eine Reduzierung der RubisC/O-Aktivität um 30 % (auf RubisC/O-Proteinbasis) bzw. um 45 % (auf Blattflächenbasis) gegenüber den Kontrollpflanzen nachgewiesen (ESKINS *et al.*, 1991).

Die niedrigeren Raten der CO₂-Assimilation in den chlorophyllarmen bzw. unter LL gewachsenen Tabakblättern waren nicht die Folge einer Limitierung durch die **Stomata**, wie das unter anderen Stress-Situationen, z. B. bei Wassermangel (FARQHAR und SHARKEY, 1982; DUA *et al.*, 1994; CORNIC, 1994; LARCHER, 1994; FIEDLER, 1998; TEZARA *et al.*, 1998) der Fall sein kann. Gegen eine solche stomatäre Limitierung sprechen folgende, das stomatäre Verhalten charakterisierende Parameter: die Werte der CO₂-Konzentration in den Interzellularräumen (c_i ; Abb. 21 und 24C), die RSL-Werte (Abb. 26) sowie die Blattleitwerte für Wasserdampf (g_{H_2O} ; Abb. 20 und 24B).

Die in den Tabakpflanzen von 193 (SNN-HL) bis auf 306 ppm CO₂ (#42-LL) erhöhten c_i -Werte unter Anzuchtlicht (Abb. 24C) bzw. die c_i -Werte in Abhängigkeit von der Mess-PPFD v. a. in den Blättern der TF (Abb. 21) zeigen, dass trotz Veränderungen in der Blattmorphologie und -anatomie (Kap. 3.2.2) keinerlei negative Beeinflussung der photosynthetischen CO₂-Assimilation durch diese Faktoren vorlag, sondern sogar noch eine "überoptimale" Versorgung der Carboxylierungszentren der RubisC/O mit CO₂ gewährleistet war. Auch TALWAR *et al.* (1996) schlossen aus unveränderten c_i -Werten in unter geringen Lichtintensitäten angezogenem *Brassica campestris*, dass stomatäre Faktoren nicht die Ursache für reduzierte CO₂-Aufnahmeraten waren.

Als ein weiterer Beweis gegen eine durch die Stomata verursachte Einschränkung der CO₂-Assimilation in den Schwachlicht-Varianten sowie in den chl-ärmsten Tabakpflanzen dienen die ermittelten geringeren Werte der relativen stomatären Limitierung gegenüber den jeweiligen Kontrollpflanzen (RSL; Abb. 26).

Ferner zeigten die Pflanzen, die durch Chl-Mangel gestresst waren, gleichbleibende bzw. erhöhte Blattleitwerte für H_2O (Abb. 20 und 24B, Tab. 16) und somit laut VON CAEMMERER und FARQUHAR (1981) bzw. FORSETH und NORMAN (1993) auch für CO_2 . Unter LL angezogene Pflanzen wiesen dagegen parallel zu ihren im Vergleich zu den HL-Varianten reduzierten CO_2 -Aufnahmeraten geringere stomatäre und intrazelluläre Leitwerte für die H_2O - und CO_2 -Diffusion auf (Abb. 19, 20, 24A und 24B, Tab. 15; PRIOUL, 1971; LARCHER, 1994; TALWAR *et al.*, 1996). Jedoch sind im Gegensatz zu der Aussage von PRIOUL (1971) letztere nicht als Ursache, sondern eher als Folge der verminderten Photosyntheseraten zu werten. Dieses ergibt sich aus der Tatsache, dass unter Lichtmangel u. a. die Verringerung von g_{H_2O} weniger stark ausgeprägt war als die von J_{CO_2} (Abb. 19, 20, 24A und 24B, Tab. 15), was gleichfalls bei Untersuchungen anderer Autoren der Fall war (WONG *et al.*, 1979; RÜHLE und WILD, 1985; TALWAR *et al.*, 1996). In Beschattungs-Versuchen an *Vitis vinifera* wurde ebenso gezeigt, dass die stomatäre Leitfähigkeit nicht zur Depression oder zur Erhöhung der CO_2 -Assimilation beiträgt (IACONO *et al.*, 1995). Diese Schlussfolgerung wird für die Tabak-Varianten in vorliegender Arbeit auch durch die höheren J_{H_2O}/J_{CO_2} -Werte ($1/WUE$; Abb. 22 und 24D) in den LL- im Vergleich zu den HL- bzw. in den #42- im Vergleich zu den WT-Blättern unterstützt, die ein Ausdruck für einen höheren H_2O -Verlust bei gleicher Netto- CO_2 -Aufnahme bzw. für einen geringeren Kohlenstoffgewinn pro transpirierter Wassermenge sind (VON WILLERT *et al.*, 1995).

Die in den Blättern der chl-ärmsten TF und der LL-Pflanzen ermittelten kleineren Werte der Stomatafrequenz (Abb. 13, Tab. 15) könnten ebenso wie die physiologischen stomatären Kenngrößen im Endeffekt mit den reduzierten CO_2 -Assimilationsraten im Zusammenhang stehen, da weniger Stomata zur Gewährleistung einer optimalen Versorgung der RubisC/O mit CO_2 notwendig sind (s. auch S. 135). Zudem wäre es denkbar, dass diese verringerte Stomataanzahl pro Fläche in den transgenen Pflanzen mit der Bildung von größeren - und somit weniger pro Fläche - Epidermiszellen verbunden sein könnte, da der Stomataindex sowohl auf der Blattunter- als auch der -oberseite in den TF nicht signifikant unterschiedlich zum entsprechenden WT war (Tab. 6). Ebenso wie in vorliegender Arbeit an Tabak-Mangelpflanzen wurden von BOARDMAN (1977), TICHÁ (1982), MANSFIELD *et al.* (1990) sowie BOLHÁR-NORDENKAMPF und DRAXLER (1993) bzw. von NIEWIADOMSKA und MISZALSKI (1995) eine Verringerung der Stomatafrequenz sowie eine Beeinflussung der Stomatagröße durch die Anzucht-Lichtintensität an verschiedenen krautigen Pflanzen bzw. durch den Chl-Gehalt an panaschierten Blättern von *Chlorophytum comosum* beschrieben.

Der Einfluss sowohl von einem experimentell veränderten Chlorophyllgehalt, aber v. a. von einem unterschiedlichen Lichtangebot während der Anzucht auf **morphologische und anatomische Aspekte der Blätter und insbesondere der Chloroplasten** wurde in einer Reihe von Studien untersucht (BACHMANN *et al.*, 1973; BOARDMAN, 1977; LICHTENTHALER *et al.*, 1981; RÜHLE und WILD, 1985; ADAMSON *et al.*, 1991; ESCHRICH, 1995; FALBEL *et al.*, 1996). Beide Mangelbedingungen rufen Veränderungen der Blattgewebe- sowie Chloroplastenstruktur hervor.

Vor allem im Zusammenhang mit der Akklimation der Pflanzen an verschiedene Lichtintensitäten spielen Modifikationen in der Blattanatomie mindestens eine ebenso wichtige Rolle wie biochemische Anpassungsprozesse (NIINEMETS und TENHUNEN, 1997). Pflanzen, die sich an LL-Bedingungen adaptiert haben, zeigen in der Regel ein schwächer ausgebildetes Palisaden- und Schwammparenchym, was in einer geringeren Mesophyllzelloberfläche, dünneren Blättern und geringeren spezifischen FM resultiert (BALLANTINE und FORDE, 1970; BOARDMAN, 1977; LONGSTRETH *et al.*, 1981; LICHTENTHALER *et al.*, 1981; RÜHLE und WILD, 1985; ESCHRICH, 1995; LIANG *et al.*, 1995; TALWAR *et al.*, 1996), so auch die unter Schwachlicht angezogenen Tabakpflanzen (Abb. 14, Tab. 5 und 15). Schon TURELL (1936) sowie NOBEL *et al.* (1975) fanden eine positive Korrelation zwischen Blattdicke und Mesophyllzelloberfläche unter dem Einfluss verschiedener Lichtintensitäten bei Blättern von *Syringa vulgaris* bzw. *Plectranthus parviflorus*. In Blättern wird mit einem hohen Verhältnis von Mesophyllzelloberfläche zu Blattfläche der Mesophyllwiderstand gering gehalten, und diese Blätter weisen eine hohe photosynthetische Kapazität auf (FARQUHAR *et al.*, 1980; SHARKEY, 1985). In unter HL gewachsenen Blättern war anhand von Blattquerschnitten im Vergleich zu denen unter Schwachlicht im allgemeinen eine größere Anzahl von Palisaden- und Schwammparenchymzellen (Abb. 14; BOARDMAN, 1977; BOLHÁR-NORDENKAMPF und DRAXLER, 1993) sowie von Chloroplasten pro Zelle (Abb. 15; LICHTENTHALER *et al.*, 1981; SEBAA *et al.*, 1987) zu verzeichnen. Daraus ergab sich, erstens, eine vergrößerte Mesophyllzelloberfläche pro Blattfläche, die laut NOBEL (1976), LONGSTRETH *et al.* (1981) bzw. BOLHÁR-NORDENKAMPF und DRAXLER (1993) primär für die höheren Photosyntheseraten in unter hohen PPFD's angezogenen Pflanzen von *Hyptis emoryi*, *Hydrocotyle bonariensis* und *Phaseolus vulgaris* verantwortlich sind. Zweitens, ist dadurch unter Lichtmangel-Bedingungen eine niedrigere Anzahl an Chloroplasten pro Blattfläche ausgebildet. Diesen Faktor halten LICHTENTHALER *et al.* (1981) und TALWAR *et al.* (1996) ebenso für eine, jedoch nicht die wesentlichste Ursache für die in solchen Blättern geringere Photosynthesekapazität. Eine um das 1.8fache steigende Anzahl von Chloroplasten pro Palisadenzelle mit (von 50 bis auf 750 $\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) steigender

PPFD wurde auch in Blättern von *Vicia faba* nachgewiesen (NIKOLAEVA, 1994). Die geringere Blattdicke sowie vergrößerte und durchgehende Interzellularräume in den LL-Blättern (Abb. 14, Tab. 15) führen zu einem erhöhten Transmissions- und damit zu einem niedrigeren Absorptionsanteil (Abb. 17) im Vergleich zu den HL-Blättern, da das Licht laut ESCHRICH (1995) an solchen Stellen ungehindert durchtreten kann. Auffallend waren die größeren, in geringerer Zahl pro Blattfläche vorliegenden Mesophyllzellen in den gelben Blattgeweben der #42 im Vergleich mit den grünen Arealen der SNN-Blätter (Abb. 14). Ähnliches wurde auch für die Blattspreiten mit gelben Querbändern von *Miscanthus sinensis* (ESCHRICH, 1995) und für chlorotische Mutanten von *Pisum sativum* (VAISHLYA *et al.*, 1998) beschrieben. Dieses ermöglicht den Pflanzen, die Blattoberfläche unter ungünstigen Bedingungen, welche zu Substratmangel führen, so groß wie möglich zu formieren und damit eine ausreichende Absorptionsoberfläche zu schaffen. Dieses ist jedoch mit einer verminderten Festigkeit (s. Kap. 3.2.1.1 und S. 132) und mit höheren Wassergehalten (Tab. 5) verbunden. Andererseits resultiert diese Bildung von weniger und größeren Zellen pro Blattfläche in einer Verringerung des Verhältnisses der inneren Zell- zur äußeren Blattoberfläche, was mit den verminderten CO₂-Aufnahmeraten im Zusammenhang steht (BOLHÁR-NORDENKAMPF und DRAXLER, 1993).

Der Chl-Mangel in den Blättern der Tabak-TF steht in Beziehung mit einer Reduzierung der Chloroplastenanzahl pro Zelle sowie pro Blattquerschnitt (Abb. 14 und 15), wie das ebenso von TIETZE (1963) und ESCHRICH (1995) für panaschierte Blätter von *Chlorophytum comosum* bzw. von *Miscanthus sinensis* beschrieben wurde. Auch der infolge der Anzucht unter Schwachlicht beobachtete verminderte Chlorophyllgehalt in den LL-Pflanzen (Abb. 6) ging mit einer geringeren Anzahl an Chloroplasten pro Zelle (Abb. 15) einher. In Übereinstimmung damit wurde in Blättern von *Vicia faba*, die unter 4 verschiedenen Lichtintensitäten wuchsen, eine positive Korrelation zwischen verändertem Chlorophyllgehalt und der Anzahl an Chloroplasten sowohl pro Zelle, als auch pro Blattfläche beobachtet (NIKOLAEVA, 1994). Die Entwicklung der Chloroplasten ist in *aurea*-Formen bzw. unter Lichtmangel parallel zu der generellen Wachstumsverzögerung solcher Pflanzen verlangsamt (BACHMANN *et al.*, 1973; ŠIFFEL *et al.*, 1993). In Abhängigkeit vom Chl-Gehalt nahmen die Chloroplasten eine langgestreckte, linsenförmige (viel Chlorophyll) oder eine runde bzw. irreguläre Form (wenig Chlorophyll) an (Abb. 15 und 16). BACHMANN *et al.* (1973) beschrieben das gleiche Bild in einer ausführlichen Studie über die Chloroplastenstruktur verschiedener Pigment-Mangelmутanten von *Zea mays*.

Die Ultrastruktur der Chloroplasten, die eng mit der photosynthetischen Funktion verbunden ist, ändert sich stark in Abhängigkeit von der verfügbaren Chl-Menge und von der Lichtintensität (Abb. 16.1 und 16.2). Eine enge Korrelation zwischen Chlorophyll-Biosynthese und der Bildung, Differenzierung und Stapelung von intakten Photosynthesemembranen wurde z. B. von HOFFMANN (1968), ADAMSON *et al.* (1980), ŠIFFEL *et al.* (1993), VON WETTSTEIN *et al.* (1995) und KUTIK (1998) berichtet. So zeigten Chloroplasten aus chl-defizienten Blättern der #42 (Abb. 16), von *Hordeum vulgare* (KNOETZEL und SIMPSON, 1991), *Glycine max* (XU *et al.*, 1993) und *Triticum aestivum* (FALBEL *et al.*, 1996) aufgrund des stark reduzierten Chl-Gehaltes im Vergleich zum WT eine reduzierte Anzahl - in vorliegender Arbeit unter HL sogar nur noch Fragmente - von Grana- und Stromathylakoiden sowie eine erhöhte Anzahl von lipidhaltigen Partikeln. Das Stromavolumen nahm im Verhältnis zum Thylakoidvolumen drastisch zu. Da als eine der wichtigsten Membrankomponenten, die das *stacking* der Thylakoidmembranen kontrollieren sollen, der *light harvesting complex* gilt (WILHELMOVA und KUTIK, 1995; VON WETTSTEIN *et al.*, 1995), waren die beschriebenen ultrastrukturellen Veränderungen infolge der gehemmten Chl-Biosynthese in den TF mit einer geringeren *light harvesting*-Kapazität verbunden, und das Absorptionsvermögen war reduziert (Abb. 17).

In der Literatur wird häufig beschrieben, dass unter Starklicht (überschüssiges Licht) das chloroplastidäre Membransystem schwächer ausgebildet ist, d. h. eine Verminderung von Thylakoidanzahl und -volumen, eine geringere Stapelhöhe sowie eine Verringerung von Granabreite und -volumen gefunden wurde (BALLANTINE und FORDE, 1970; BACHMANN *et al.*, 1973; BOARDMAN, 1977; LICHTENTHALER *et al.*, 1981; RÜHLE und WILD, 1985; ADAMSON *et al.*, 1991; HAAG und RENGGER, 1993; TALWAR *et al.*, 1996; SEBAA *et al.*, 1987; KUTIK, 1998). Durch den in dieser Arbeit gewählten Ansatz des Vergleiches von normalen zu mangelnden Anzucht-Lichtbedingungen lassen die dargestellten Aufnahmen für den Wildtyp (Abb. 16.1A und 16.2A) kaum einen Unterschied zwischen HL- und LL-Chloroplasten erkennen. Jedoch lag hier unter Schwachlicht eine Tendenz zu etwas großflächigeren Granastapeln vor. In den Blättern der #42 wird dagegen die stärker ausgeprägte Membranstruktur unter Lichtmangelbedingungen sehr deutlich (Abb. 16.1B und 16.2B). Wie für Sonnen- und Schattenblätter von ANDERSON (1986) bzw. ANDERSON *et al.* (1995) gezeigt, steht das Ausmaß des *stackings* der Thylakoidmembranen in umgekehrter Beziehung zum Chlorophyll a/b-Verhältnis. So war unter Lichtmangel eine vermehrte Granabildung mit der Folge einer erhöhten *light harvesting*-Kapazität (s. S. 95) bei gleichzeitig verringerten Chlorophyll a/b-Verhältnissen (Abb. 6) zu beobachten. Da jedoch unter diesen Bedingungen viel weniger Chloroplasten pro Fläche zu finden waren, kam es im Endeffekt zu einer verringerten Anzahl der photosynthetischen Ein-

heiten pro Blattfläche und damit zu geringeren Photosyntheseraten. Im Verlaufe der Ontogenese (BONDADA und OOSTERHUIS, 1998b; KUTIK, 1998) bzw. bei Pigment-Mangel im Vergleich zum WT (BALLANTINE und FORDE, 1970) zeigte sich, dass das Granavolumen (Anzahl der Granastapel und der Thylakoiden pro Granum) in einem engen Bezug zu den CO₂-Aufnahme- sowie Wachstumsraten steht. In den Tabakpflanzen der extrem chl-armen TF, die unter normalen Lichtintensitäten angezogen wurden, war der *stacking*-Grad parallel zu den verringerten CO₂-Aufnahme- (Abb. 19 und 24A) und Wachstumsraten (Abb. 8, 9 und 12, Tab. 3) im Vergleich zu den SNN-Pflanzen niedriger (Abb. 16.1).

Die **Photorespiration** zeigte unter Chlorophyll- bzw. Lichtmangelbedingungen eine verringerte Rate (Abb. 25), die ebenso wie die Netto-CO₂-Assimilation sowohl durch Energie-limitierung aus der photosynthetischen ETK als auch durch *down*-Regulation, z. B. der RubisC/O-Menge und -Aktivität, vermittelt sein kann. Infolge eines in normaler Gasatmosphäre (21 % O₂, 340 ppm CO₂) konstanten Verhältnisses von Oxygenase- zu Carboxylase-Aktivität der RubisC/O (LAING *et al.*, 1974; WILD und HÖHLER, 1978) war unabhängig von Anzuchtlicht und Genotyp eine enge lineare Korrelation zwischen den unter Anzucht-PPFD gemessenen CO₂-Aufnahme- und Photorespirationsraten ($r^2 = 0.9968$; Werte aus Abb. 24A und 25) in den Tabakblättern zu verzeichnen, und alle Tabakvarianten mit Ausnahme der #42-LL (27 %) gaben etwa 30 % des assimilierten Kohlenstoffes über die Photorespiration wieder ab (Tab. 9). Generell wird dieser relative Anteil der Photorespiration für C₃-Pflanzen mit ca. 25 bis 40 % angegeben (HOFFMANN, 1985; KEYS, 1986; HEBER *et al.*, 1990; LEA und BLACKWELL, 1993; VON WILLERT, 1995; MUSCHAK, 1997). Dieses Ergebnis bestätigt die Vorstellung, dass das Verhältnis der beiden RubisC/O-Reaktionen vom Metabolismus im Calvin-Zyklus weitgehend unabhängig ist (DI MARCO *et al.*, 1994) und im wesentlichen durch das Verhältnis der Substrate CO₂ und O₂ im Stroma bestimmt wird (JENSEN und BAHR, 1977; LAWLOR und KEYS, 1993; TAIZ und ZEIGER, 1998).

Die Menge des fixierten CO₂ bestimmt die obere Grenze der Kohlenstoffverfügbarkeit für die Nutzung im *source*-Organ sowie für den Export in und die Aufteilung auf die verschiedenen *sink*-Organe (SHARMA und SENGUPTA, 1997; ESCOBAR-GUTIÉRREZ und GAUDILLÈRE, 1997). Verschiedene Autoren fanden einen engen Zusammenhang zwischen C-Verfügbarkeit und Photosyntheserate (AOKI und YABUKI, 1977; SHARMA und SENGUPTA, 1997) sowie der Größe des Kohlenhydrat-Pools (CAVE *et al.*, 1981) bei verschiedenen unter CO₂-Anreicherung der Außenluft angezogenen C₃-Pflanzen. Gleichermäßen bedingten auch Licht- und extremer

Chlorophyllmangel eine Reduzierung der verfügbaren Menge an Kohlenstoff (Abb. 34) infolge der verringerten Netto-CO₂-Fixierung. Resultierend daraus war der **Kohlenhydrat-Pool** in den *source*-Blättern der LL- bzw. der chl-ärmsten Pflanzen, gemessen als Stärke- (Abb. 32A, Tab. 15) und Zuckergehalte in den Tagesproben (Sac, Fru, Glu; Abb. 33) im Vergleich zu den jeweiligen Kontrollpflanzen geringer. Eine reduzierte Akkumulation von transienter Stärke in den Tabakblättern infolge von Licht- bzw. Chl-Mangel wird auch durch die Tagesdifferenzen der TM (Abb. 32B) deutlich. Die niedrigeren **Dunkelatmungsraten** in den Schwachlicht- (um 63 - 71 %; Abb. 23, Tab. 15) bzw. den transgenen Pflanzen (um 42 - 61 %; Abb. 23, Tab. 16) könnten eine Folge der geringeren Gehalte an Zucker und Stärke (Abb. 33 und 32A), d. h. einer verringerten Assimilatbereitstellung durch die Photosynthese sein. FARRAR (1993) betont eine solche Beziehung von Atmung und Photoassimilaten im Zusammenhang mit der C-Aufteilung in der Pflanze. Die verminderten Raten der Dunkelrespiration bei Anzucht von Pflanzen unter Schwachlicht werden von DUARTE und FERREIRA (1995) sowie GLOSER und GLOSER (1996) als eine wichtige Adaptation zur Senkung von Energieverlusten beschrieben. Die Menge an Stärke, die in der Dunkelfase in den Chloroplasten der *source*-Blätter abgebaut und damit für die Atmung in den Mitochondrien sowie für den Export in die *sink*-Organe und hier für Wachstum und Speicherung zur Verfügung steht (HELDT, 1996; SHARMA und SENGUPTA, 1997), war in den LL- bzw. transgenen Tabakpflanzen niedriger als in den entsprechenden Kontrollen und korrelierte stark mit der tagsüber akkumulierten Menge an transienter Stärke ($r^2 = 0.9642$; Daten aus Abb. 32A). Der in den LL-Blättern ermittelte höhere relative Stärke-Abbau im Dunkeln von 95 - 98 % der tagsüber akkumulierten Menge im Vergleich zu 81 - 86 % in den HL-Blättern (Abb. 32A) dürfte v. a. darauf zurückzuführen sein, dass die LL-Pflanzen aufgrund ihrer geringeren photosynthetischen Leistung zur Aufrechterhaltung einer bestimmten Produktivität sämtliche Reserven nutzen mussten (s. auch Kap. 4.3). Außerdem war in den LL- im Vergleich zu den HL-Pflanzen die Menge an tagsüber akkumulierter Stärke weitaus drastischer reduziert als die Dunkelrespirationsrate (Abb. 23), was zu einem höheren relativen Wert an durch die Respiration genutzter Stärke führen kann. Die im Vergleich mit den HL-Varianten niedrigeren Dunkelatemungsraten in den LL-Pflanzen (um 63 bis 71 %; Abb. 23) waren mit den erhöhten apparenten Quantenausbeuten (auf 111 bis 175 %; Tab. 8) die Ursache für die um 68 bis 79 % geringeren LKP, d. h. für die Reduktion der Photonenflüsse, die zur Kompensation der respiratorischen CO₂-Produktion durch die photosynthetische CO₂-Assimilation notwendig sind (Tab. 7 und 15, Abb. 19). Auch bei ökophysiologischen Studien an *Fagus sylvatica* wurden reduzierte Dunkelrespirationsraten sowie geringere LKP mit abnehmendem relativem Lichtgenuss (KLUMPP *et al.*, 1998) bei gleichzeitig erhöhten Quantenausbeuten (SCHULTE, 1993) gezeigt. Bei den TF, die neben niedrigeren Raten der Dunkelrespiration, zumindest bei stärkerem Chl-Mangel, allerdings auch geringere apparente Quantenausbeuten aufwiesen (Tab. 8 und 16), trat die Lichtkompensation

bei ähnlichen (ca. $5 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (#42 und SNN) unter LL) bzw. sogar bei höheren Lichtintensitäten (22 (#42) gegenüber $18 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (SNN) unter HL) ein (Tab. 7, Abb. 19). Vergleichsweise dazu waren bei chl-defizienten Mutanten von *Glycine max* bei verminderten CO_2 -Aufnahmeraten die apparente Quantenausbeuten um 20 bis 30 % niedriger und die LKP deutlich höher als im WT (XU *et al.*, 1993). Die reellen Quantenausbeuten waren in den Tabakpflanzen, die unter $30 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ angezogen wurden, im Vergleich zu denen unter HL signifikant erhöht (Tab. 8), da die Photosynthese von Schattenblättern bei Photonenflüssen, an die sie adaptiert sind, effizienter arbeitet als die der Blätter, die an höhere PPFD's angepasst sind, und sie somit pro aufgenommenes mol CO_2 erheblich weniger Photonen absorbieren müssen (BOARDMAN, 1977; LICHTENTHALER *et al.*, 1981; LAWLOR, 1990; SCHULTE, 1993). Dieses ergibt sich einerseits durch die an geringe Photonenflussdichten angepasste Morphologie der Blätter und Chloroplasten (s. S. 99 ff.), andererseits durch Adaptation des biochemischen Apparates (s. S. 96 ff. und Kap. 4.3). Auch in den Blättern der TF wurde unter geringen Lichtintensitäten die infolge des reduzierten Chl-Gehaltes geringere absorbierte Photonenmenge (Abb. 17) für die CO_2 -Assimilation effektiver genutzt als in den vergleichbaren SNN-Blättern (Tab. 8) (s. auch S. 135). Bei hohen, sättigenden PPFD's ergab sich für die Tabak-Varianten, dass mit einer Verringerung der durch Chlorophyll- oder Lichtdefizienz bedingten maximalen CO_2 -Aufnahmeraten eine Verminderung der Lichtsättigungspunkte einherging ($r^2 = 0.9034$; Werte aus Tab. 7). Solch eine positive Korrelation zwischen den maximalen, gesättigten Photosyntheseraten und den Lichtintensitäten, unter denen die Lichtsättigung eintritt, wurde von FORSETH und NORMAN (1993) als allgemein vorherrschend beschrieben.

In der Literatur finden sich in letzter Zeit Hinweise darauf, dass lösliche Zucker mittels unterschiedlicher, zum großen Teil noch unbekannter Mechanismen eine große Anzahl von Genen regulieren, die in Funktionen involviert sind, die mit der Photosynthese, dem *sink*-Metabolismus und verschiedenen Abwehrmechanismen assoziiert sind (Lit. bei KOCH, 1996; HERBERS *et al.*, 1996a und 1996b; MARTIN *et al.*, 1997; FURBANK *et al.*, 1997; LEE und DAIE, 1997). KOVTUN und DAIE (1995) sowie FURBANK *et al.* (1997) zeigten an *Beta vulgaris* bzw. *Nicotiana tabacum*, dass ein experimentell bewirkter Anstieg der Saccharose-Konzentration in *source*-Blättern zu höheren maximalen Photosynthese- und Wachstumsraten, Aktivitäten photosynthetischer Enzyme und blattflächenbezogenen Gehalten an Stärke und Chlorophyll führt. Für die Diskrepanz dieser Ergebnisse zu denen anderer Autoren (z. B. SHEEN, 1994; HERBERS *et al.*, 1996a und 1996b; ONO und WATANABE, 1997), die eine durch erhöhte Zuckergehalte vermittelte Repression von Photosynthese-Genen fanden, machen FURBANK *et*

al. (1997) einen Schwellenwert verantwortlich, wobei Saccharose unterhalb dieses Wertes als positives Signal für die Expression von in die Photosynthese involvierten Genen agiert, oberhalb jedoch eine Inhibierung der Genexpression initiiert. Inwieweit die in den Licht- bzw. Chl-Mangelpflanzen als Folge der niedrigeren Photosyntheseraten (s. S. 94 ff.) ermittelten geringeren Zuckergehalte (Abb. 33) ihrerseits wiederum auf die Genexpression photosynthetischer Enzyme *feedback* wirken können, kann aufgrund der z. Zt. noch widersprüchlichen Literaturdaten hier nicht erörtert werden. Jedoch scheint solch eine *feedback*-Kontrolle der Genexpression durch das Endprodukt des C-Metabolismus eher eine Rolle bei einer Glucosezufuhr von außen bzw. bei einem gestörten Zuckertransport aus dem *source*-Organ zu spielen, was beides zu einem Rückstau von Metaboliten und somit zum Energieüberschuss im hierarchischen System führt. Unter den gegebenen Bedingungen von Energie-/Substratmangel ist dieses weniger wahrscheinlich (s. auch S. 133 ff.).

Andererseits existiert eine Zahl von Literaturdaten, die eine Hemmung von Enzymen der mitochondrialen Atmung durch verringerte Saccharose- bzw. Glucose-Gehalte zeigten (Lit. bei KOCH, 1996). Das entspricht der oben erwähnten Tatsache (S. 104), dass die für die Dunkelrespiration notwendigen, jedoch in limitierender Menge vorliegenden Substrate diese begrenzen. So gingen in den Licht- und Chl-Mangelpflanzen reduzierte R_D -Werte (Abb. 23) mit, soweit signifikant unterschiedlich, verminderten Sac- und Glu-Gehalten (Abb. 33A und 33B) einher. RÜHLE und WILD (1985) erklären dagegen die niedrigere Dunkelatmung in Schwachlichtpflanzen primär mit Einsparungen aus dem Protein-*turnover*. Unter den in dieser Arbeit untersuchten Stressbedingungen ist es jedoch wahrscheinlicher, dass die reduzierte Bereitstellung an Substraten ausschlaggebend für die verminderten Raten der mitochondrialen Atmung in den Tabak-Varianten war.

Eine enge positive Korrelation zwischen Photosyntheserate und **Stickstoff**aufnahme bzw. -gehalt wurde vielfach in der Literatur dokumentiert, wie z. B. für Blätter von *Lolium perenne* (NIJS *et al.*, 1995), von *Glycine max* (HAYATI *et al.*, 1995), von *Fagus crenata* (LIANG *et al.*, 1995), von *Acer saccharum* (NIINEMETS und TENHUNEN, 1997) sowie von *Gossypium hirsutum* (BONDADA und OOSTERHUIS, 1998a und 1998b). Diese Beziehung ergibt sich zum einen daraus, dass 50 bis 80 % des gesamten im Blatt enthaltenen Stickstoffes in Proteinen, die in die Photosynthese involviert sind, enthalten ist (CHAPIN *et al.*, 1987; MAKINO und OSMOND, 1991). Zum anderen erfordert die NO_3^- -Assimilation, d. h. der Einbau des Nitratstickstoffs in verschiedene organische Verbindungen (v. a. in Aminosäuren) einen großen Teil der

photosynthetisch gebildeten Energieäquivalente (HIKOSAKA und TERASHIMA, 1995; LARA *et al.*, 1995). In den Blättern der unter Lichtmangel angezogenen Tabakpflanzen und der extrem chl-armen TF waren die Blatt-Stickstoffgehalte parallel zu den verringerten CO₂-Aufnahmeraten unter Anzucht- bzw. sättigendem Licht (Abb. 19 und 24A, Tab. 7) um 30 bis 70 % gegenüber den HL-Pflanzen bzw. um 20 bis 60 % gegenüber dem entsprechenden WT niedriger (Abb. 34). Eine Zunahme des N-Gehaltes im Blatt mit steigenden Lichtintensitäten, welcher zudem noch die Rate der täglichen C-Fixierung maximieren soll (HIKOSAKA und TERASHIMA, 1995), wurde u. a. auch von LIANG *et al.* (1995), XIA (1995) sowie ZHANG *et al.* (1997) beobachtet. Eine durch Lichtmangel bedingte verringerte Gesamtverfügbarkeit an Stickstoff bewirkt eine Verschiebung der N-Aufteilung im Blatt; sie führt zu einem verminderten Einbau von N in e⁻-Carrier und in Enzyme des Calvin-Zyklus, v. a. der RubisC/O, und zu einem verstärkten Einbau von N in Chl-Protein-Komplexe (HIKOSAKA und TERASHIMA, 1995). Diese Tatsache unterstützt ihrerseits die Aussagen hinsichtlich der Änderungen der LHC-Oberfläche (s. S. 95), der ETR (s. S. 96) bzw. der RubisC/O-Menge (s. S. 96 f.) unter Lichtmangel. Die gleichzeitige Assimilation von C und N in belichteten Blättern erfordert eine regulierte Aufteilung von Reduktionsequivalenten und Photosynthaten, um den Bedarf für die Aminosäure- (und Protein-) und die Kohlenhydrat-Synthese zu decken (CHAMPIGNY, 1995). Bei diesem Zusammenhang zwischen CO₂-Fixierung und NO₃⁻-Assimilation, der ein in einem weiten Bereich wenig verändertes C/N-Verhältnis bedingt (Tab. 14; FOYER *et al.*, 1995; LIANG *et al.*, 1995), gehen LARA *et al.* (1995) von einer strikten C-Abhängigkeit der NO₃⁻-Assimilation infolge einer Kontrolle der Nitratreduktase-Aktivität durch Produkte der Kohlenstoff-Assimilation aus. LIANG *et al.* (1995) vermuten dagegen, dass der Stickstoff-Gehalt - zumindest unter Schwachlichtbedingungen - der Hauptfaktor in der Determinierung der Photosynthesekapazität ist. Unter starkem Chl-Defizit bzw. unter LL spricht allerdings der leichte Abfall des C/N-Verhältnisses (Tab. 14) infolge einer stärkeren Reduzierung des Kohlenstoff- als des Stickstoffgehaltes in den Blättern (Abb. 34, Tab. 14) für eine Nachregulierung der N-assimilierenden Prozesse durch die C-Fixierung.

Desweiteren hat die Stickstoff-Assimilation als ein wesentlicher anabolischer Prozess im photosynthetischen Metabolismus einen entscheidenden Einfluss auf den Proteingehalt und das pflanzliche Wachstum (LARA *et al.*, 1995). Die Wachstumsintensität sowie die Menge an akkumulierter pflanzlicher Biomasse korrelieren mit dem zur Verfügung stehenden Stickstoff (KÜHL, 1990; MUTHUCHELIAN, 1992; KÜHL und KOHL, 1993; HÖFT *et al.*, 1996). Auch in den Tabakblättern zeigten Stickstoffgehalt (Abb. 34) und Gehalt an löslichen Proteinen (Abb. 35) einerseits und Stickstoffgehalt und Blattwachstum (max. Fläche und Wachstumsrate; Abb. 12) andererseits ein paralleles Verhalten unter Licht- bzw. Chl-Mangel.

Sowohl Lichtmangel in den LL-Pflanzen als auch Chl-Defizit in den TF rufen spezifische Änderungen in der **Morphologie** und im **Wachstums- und Entwicklungsverhalten** der Pflanzen hervor (Kap. 3.2, Tab. 15 und 16). Dass Tabakpflanzen auf Lichtmangel empfindlich mit Absterben der unteren Blätter und Wachstumsstörungen reagieren, wurde schon von ENDEMANN (1954) beschrieben. Die verlängerten Entwicklungszeiten von *Nicotiana tabacum* (Tab. 3) und anderen an geringe Lichtintensitäten angepassten Pflanzen (Tab. 15) weisen zusammen mit verminderten Wachstumsraten sowie verringerten Pflanzenhöhen (Abb. 8, Tab. 3 und 15) und Blattflächen (Abb. 12, Tab. 15) auf eine allgemeine Retardation von Wachstum und Entwicklung in unter LL angezogenen Pflanzen im Vergleich zu HL hin. Diese unterschiedliche Entwicklungsgeschwindigkeit von unter 300 bzw. 30 $\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ angezogenen Pflanzen war primär auf die verringerte Verfügbarkeit von Assimilaten unter Schwachlicht-Bedingungen zurückzuführen (s. S. 103 f.). Zu gleichem Schluss kommen LICHTENTHALER *et al.* (1981) im Rahmen einer vergleichenden Studie nicht nur von LL- mit HL-Pflanzen, sondern auch von Schatten- mit Sonnenpflanzen. Da die Photosynthese als Hauptantriebskraft für das Pflanzenwachstum, die Produktivität und den Ertrag eine grundlegende Rolle in der Bereitstellung von Assimilaten für die Biomasse-Produktion spielt, wurde in vielen Untersuchungen zum Zusammenhang von photosynthetischen Prozessen und Produktivität, z. T. in Abhängigkeit von verschiedenen Umweltbedingungen wie der Lichtintensität, eine, wie erwartet, enge positive Korrelation zwischen CO_2 -Assimilationsrate und Wachstumsrate (KÜPPERS *et al.*, 1988; LIANG *et al.*, 1995; ATKIN *et al.*, 1997) sowie von CO_2 -Assimilationsrate unter Anzucht- bzw. sättigendem Licht und akkumulierter Bio-Frischmasse aufgezeigt (MUTHUCHELIAN, 1992; NIKOLAEVA, 1994; LIANG *et al.*, 1995). Die in den Tabakpflanzen aus veränderten Chl-Gehalten und verschiedenen Anzuchtlichtbedingungen resultierenden unterschiedlichen Netto- CO_2 -Aufnahmeraten stehen in einem statistisch gesicherten linearen Zusammenhang mit den maximalen Wachstumsraten der Blattflächen ($r^2 = 0.8039$), mit den spezifischen Blatt-Frischmassen ($r^2 = 0.8624$) sowie den spezifischen Blatt-Trockenmassen ($r^2 = 0.8523$) (Werte aus Abb. 12 und 24A, Tab. 4 und 5). Da die TM-Produktion und das Pflanzenwachstum nicht nur durch die CO_2 -Aufnahmerate bestimmt wird, sondern es sich hier um eine komplizierte Gesamtheit von Prozessen handelt (s. Abb. 36), wurde in einigen Studien eine direkte lineare Beziehung zwischen Photosyntheserate und akkumulierter TM bzw. Wachstumsparametern nicht bestätigt (LAWLOR, 1990 und 1995; BOLHÁR-NORDENKAMPF und DRAXLER, 1993; SHARKOVA und BUBOLO, 1996). Dieses ist v. a. darin begründet, dass erstens Erhaltungsprozesse sowie Atmungs“verluste” (HOFFMANN, 1985; LAMBERS, 1987; FARRAR, 1993; LAWLOR, 1995; HOPKINS, 1995) eine wesentliche Rolle im Gesamtstoffwechsel der Pflanze spielen (s. Kap. 4.3) und zweitens unter den meisten Bedingungen eher eine Limitierung des Wachstums durch andere Faktoren als die verfügbare Menge an Photosynthaten, wie z. B. die Verfügbarkeit an Nährstoffen bzw. Wasser oder die Fähigkeit

der Pflanze zur Nutzung der Photosynthate, zu erwarten ist (EVANS, 1975; HÖFT *et al.*, 1996; HANSEN *et al.*, 1996, 1997 und 1998). Für den hier untersuchten Tabak handelt es sich jedoch aufgrund des Licht- bzw. Chlorophyllmangels um Photosynthat-limitierende Bedingungen, was durch die oben gezeigte gute Korrelation zwischen Wachstum und Photosyntheserate bestätigt wird. Von anderen Autoren wurde ein Zusammenhang ebenso zwischen der Rate der mitochondrialen Atmung im Dunkeln und der Wachstumsrate der Blätter nachgewiesen (AMTHOR, 1989; CRIDDLE *et al.*, 1996; HANSEN *et al.*, 1998), der sich für die Tabakpflanzen mit einer Korrelation von $r^2 = 0.7811$ (Werte aus Abb. 23 und 12, Tab. 4) ergab. Diese Beziehung erklärt sich höchstwahrscheinlich aus der Tatsache, dass sowohl die Dunkelrespirationsrate als auch die Wachstumsrate unmittelbar von den durch die Photosynthese bereitgestellten Assimilaten abhängen.

Unter Etiolement sowie unter sehr geringer Lichtverfügbarkeit ist das Festigungsgewebe von Pflanzen nur schwach ausgebildet (ESCHRICH, 1995), so auch bei den hier untersuchten LL-Varianten (Kap. 3.2.1.1). Dieses hängt, wie generell für das Wachstum festgestellt worden ist (s. o.), mit einem verringerten Angebot an Assimilaten für die nachfolgenden Stoffwechselwege zusammen. So können neben der Protein- u. a. auch die Zellwand- sowie die Fettsäure-Biosynthese beeinflusst sein (KRAPP *et al.*, 1993; BROWSE, 1997). LOZOVAYA *et al.* (1996) zeigten in Versuchen mit $^{14}\text{CO}_2$ und photoautotrophen *Glycine max*-Suspensionskulturen, dass nach 96 h 80 % des aufgenommenen ^{14}C in die Zellwand eingebaut worden und unter weiterer Anzucht im Dunkeln der Einschluss von ^{14}C in die Zellwand parallel zu dem eingeschränkten Wachstum drastisch vermindert war.

Auch in den extrem chl-armen TF führt die verminderte Biomassebildung zu einer verringerten TM-Akkumulation, was sich äußerlich in weniger festen Stengeln und Blättern widerspiegelt (Kap. 3.2.1.1). Adäquat zu dem Bestreben der Pflanzen, trotz verminderter TM-Bereitstellung durch die Photosynthese, eine ausreichend große Absorptionsoberfläche zu schaffen, war der relative Wassergehalt sowohl in den Pflanzen unter Lichtmangel als auch in denen der #42 signifikant erhöht (Tab. 5).

4.1.3 SCHLUSSFOLGERUNG

Bei der Anpassung der Pflanzen an unterschiedliche Lichtbedingungen oder veränderte Lichtabsorptionsmöglichkeiten infolge einer gehemmten Chl-Biosynthese handelt es sich um komplexe, ausbalancierte Veränderungen, die in Differenzen von Struktur, Zusammensetzung und Funktion der Chloroplasten, Blätter sowie der gesamten Pflanze resultieren. Dabei ist v. a. die Anpassung des Photosyntheseapparates an unterschiedliche Lichtintensitäten die primäre, grundlegende zentrale Antwort während des Wachstums.

Schwachlichtbedingungen während der Anzucht bewirkten eine geringere Chloroplasten-Anzahl sowie stärker granahaltige Chloroplasten und einen reduzierten blattflächenbezogenen Chl-Gehalt, eine verringerte photosynthetische Aktivität (ETR, CO₂-Aufnahmeraten, RubisC/O-Menge und -Aktivität) sowie verminderte Photo- und Dunkelrespirationsraten, eine reduzierte Biomasseakkumulation (Zucker- und Stärkegehalte, spezifische Frisch- und Trockenmassen, Blattdicken etc.) und ein retardiertes Wachstums- und Entwicklungsverhalten (Pflanzenhöhen und Einzel- bzw. Gesamt-Blattflächen, Wachstums- und Entwicklungsdauer der Blätter sowie Pflanzen).

Ein **verminderter Chl-Gehalt** durch eine gehemmte Chl-Biosynthese hatte Chloroplasten mit weniger entwickelten Thylakoiden zur Folge, desweiteren ebenfalls eine Reduzierung von Aktivitäten und Parametern photosynthetischer Prozesse (ETR, apparente Quantenausbeuten, CO₂-Aufnahmeraten), eine Verringerung der Photorespirationsrate sowie der mitochondrialen Atmungsrate, eine Verminderung der Bildung und Akkumulation von Biomasse (Stärkegehalte, spez. Frisch- und Trockenmassen) sowie eine Reduzierung und Verzögerung von Wachstumsparametern und -prozessen (Pflanzenhöhen, Blattflächen, Wachstumsraten und -dauer).

Somit führten Licht- und extremer Chlorophyllmangel in den Tabakpflanzen über Energie- und Substratlimitierung sowie infolge der Langzeitadaptation über *down*-Regulation zu einer **generellen Reduzierung** von Stoffwechselraten und metabolischen Kenngrößen auf dem Weg von der Lichtenergie zum Wachstum.

Aus diesen Befunden leiten sich für die vorliegende Arbeit folgende Fragen ab:

- ↳ Welche Rolle kommt dabei dem Energiestoffwechsel zu?
- ↳ Nach welchem Prinzip erfolgt die generelle Reduzierung der metabolischen Aktivitäten und welche Mechanismen könnten dem zugrunde liegen?

4.2 DIE ROLLE DES ENERGIESTOFFWECHSELS

4.2.1 ZUM ENERGIE- UND REDUKTIONSSTATUS

AdN und PN besitzen im pflanzlichen Metabolismus eine zentrale Bedeutung - einerseits als universeller Energieüberträger bzw. als Wasserstoff- und Elektronenüberträger, andererseits wegen ihrer regulatorischen Funktion. Aufgrund ihres universellen Vorkommens in der Zelle, ihres hohen prozentualen Anteiles am Gesamtpool der freien Nucleotide, ihrer Beteiligung an einer Vielzahl von Stoffwechselprozessen, ihren extrem hohen Umsatzraten und ihrer wechselseitigen Beeinflussung ermöglichen die AdN und PN eine sehr sensible dynamische Abstimmung des Stoffwechsels in Abhängigkeit von den jeweiligen Bedingungen (Lit. bei KRAUSE, 1975; KITZMANN, 1996). Deshalb stehen die AdN und die PN im Mittelpunkt vieler Untersuchungen mit unterschiedlichsten Zielstellungen auf subzellulärer, Zell- bzw. Organ-Ebene, beispielsweise in Abhängigkeit von Tagesrhythmen, Induktionsprozessen und extern und intern variierenden Bedingungen (z. B. HAMPP *et al.*, 1982; HOFFMANN, 1982; PEINE, 1985; MELIS *et al.*, 1985; HEBER *et al.*, 1986 und 1987; NICOLAI, 1990; RAO *et al.*, 1990; GERST *et al.*, 1994; GILMORE und BJÖRKMAN, 1994; HUNER *et al.*, 1996; KITZMANN, 1996) sowie Literaturübersichten (z. B. KRAUSE, 1975; EVERSE *et al.*, 1982; PRADET und RAYMOND, 1983; RAYMOND *et al.*, 1987; FOYER *et al.*, 1990).

Die Bedeutung der AdN und PN wird auch dadurch deutlich, dass für sämtliche pflanzen- sowie human-/tierphysiologische Prozesse, angefangen bei der Systemerhaltung über Befruchtungs- und Keimungs-, Transport- und Stressreaktions- bis hin zu Apoptoseprozessen, als primäre Voraussetzung ein bestimmtes Potential an AdN und PN bzw. als Auslöser Änderungen im Energiestoffwechsel in engeren Betracht gezogen werden (KLEBER und SCHLEE, 1991; NOACK, 1994; HAVEL und DURZAN, 1996; LARCHER, 1994; CHAO und LIN, 1996). Auch als Signalmetaboliten bei der Signaltransduktion für die Regulation der Expression von Kern- und chloroplastidären Genen sollen der ATP- und/oder der NADPH^+H^+ -Pool eine wichtige Rolle spielen (MELIS *et al.*, 1985; DANON und MAYFIELD, 1994; ANDERSON *et al.*, 1995; KUSIAN und BOWIEN, 1997).

In den photosynthetischen Prozessen im Chloroplasten stellen ATP und NADPH^+H^+ die Bindeglieder zwischen den an den Thylakoiden ablaufenden Lichtreaktionen und den stromalen

reduktiven Prozessen dar (s. Abb. 36). Dabei fungieren sie nicht nur als Überträger der durch die Lichtreaktionen bereitgestellten Energie und Elektronen, sondern spielen eine wichtige regulatorische Rolle bei der Anpassung an unterschiedliche Bedingungen mit dem Ergebnis einerseits einer maximalen Effizienz der Energieverwertung, andererseits des Schutzes des Systems vor überschüssiger Energie. Die Ausbalancierung zwischen ATP- und NADPH^+H^+ -Angebot und -Verbrauch steht somit im Mittelpunkt der *feedback*-Kontrolle der in den Thylakoiden ablaufenden Prozesse - z. B. bei Lichtüberschuss, bei limitierter CO_2 -Versorgung, bei Inhibierung von Calvin-Zyklus-Enzymen oder bei limitiertem Abtransport von primären oder sekundären Photosyntheseprodukten - bzw. der *feedforward*-Kontrolle der Kohlenstoffassimilation - z. B. bei limitiertem Lichtangebot oder bei Inhibierung der ETK - (KOBAYASHI *et al.*, 1982; FOYER *et al.*, 1990; HAAG und RENGGER, 1993; POLLE und EIBLMEIER, 1995; ELSTNER, 1996; HUNER *et al.*, 1996; KITZMANN, 1996). Von FOYER *et al.* (1990) wurde dafür der Begriff der "photosynthetischen Kontrolle" eingeführt. Dabei spielen weniger die absoluten Gehalte bzw. Konzentrationen der Nucleotide selbst, sondern eher die Poolrelationen eine entscheidende Rolle (HOFFMANN, 1985 und 1987; RAYMOND *et al.*, 1987; KITZMANN, 1996).

Die energetische Situation der Zelle kann dabei durch das ATP/ADP-Verhältnis oder durch den *adenylate energy charge* (EC; ATKINSON, 1968; Gleichung [16] in Kap. 2.2.5), der ein Kriterium für den Vorrat an energiereichen Phosphoanhydrid-Bindungen (RAYMOND *et al.*, 1987; KLEBER und SCHLEE, 1991; SCHLEE, 1992) ist, beschrieben werden. Für metabolisch aktive Zellen sind EC-Werte in einem Bereich von 0.5 bis 0.9 charakteristisch (Tab. 10; KRAUSE, 1975; GIERSCHE *et al.*, 1980; HAMPP *et al.*, 1982; HOFFMANN, 1987; KUMAZAWA *et al.*, 1987; RAYMOND *et al.*, 1987; LÖFFLER, 1990; KLEBER und SCHLEE, 1991), d. h. dass die ATP-regenerierenden Prozesse sättigend oder im Überschuss im Vergleich zu den ATP-verbrauchenden vorliegen (RAYMOND *et al.*, 1987). Bei einem unter 0.5 abfallenden EC-Wert in metabolisch aktiven Zellen kann die Stoffwechselhomöostase nicht mehr aufrechterhalten werden und der Zelltod tritt ein (MOHR und SCHOPFER, 1992; LARCHER, 1994).

Analog zum EC wurden von WILDNER (1975), ANDERSEN und VON MEYENBURG (1977) sowie QUEBEDEAUX (1981) der *anabolic* (ARC) und *catabolic reduction charge* (CRC) bzw. der *redox charge* (RC; Gleichungen [17] - [19] in Kap. 2.2.6) als Maß für den zur Verfügung stehenden Anteil an Reduktionsequivalenten entweder des $\text{NAD}(\text{H}^+\text{H}^+)$, des $\text{NADP}(\text{H}^+\text{H}^+)$ oder des Gesamt-PN-Systems definiert. Diese Parameter dienen neben den Verhältnissen von reduzierten zu oxidierten PN ($\text{NAD(P)}\text{H}^+\text{H}^+/\text{NAD(P)}^+$) der Charakterisierung des Reduktionszustandes der Zelle bzw. als wichtige Regelgröße für den Stoffwechsel zwischen NAD^+ - bzw.

NADP⁺-reduzierenden Kompartimenten (KLEBER und SCHLEE, 1991). Für den ARC finden sich in der Literatur für Blattmaterial mit aktivem Stoffwechsel Werte von 0.3 bis 0.7, meist jedoch liegen NADPH⁺H⁺ und NADP⁺ in ca. äquimolaren Konzentrationen vor, das entspricht einem ARC von 0.5 (Tab. 11; Lit. in HOFFMANN, 1985; PEINE *et al.*, 1985, 1990 und 1993; RAYMOND *et al.*, 1987; RAO *et al.*, 1990; HOFFMANN *et al.*, 1993; BATINI *et al.*, 1995). Das NADH⁺H⁺/NAD⁺-Paar ist meist im oxidierten Zustand zu finden, daraus ergeben sich Werte für den CRC zwischen 0.1 und 0.4 (Tab. 11; Lit. in HOFFMANN, 1985; PEINE *et al.*, 1985, 1990 und 1993; RAYMOND *et al.*, 1987; RAO *et al.*, 1990; HOFFMANN *et al.*, 1993). Der Gesamt-Redoxstatus der Zelle (RC) wird in der Literaturzusammenstellung von HOFFMANN (1985) und in der Arbeit von RAO *et al.* (1990) mit Werten zwischen 0.25 und 0.44 angegeben und lag auch bei den Tabakpflanzen genau in diesem Bereich (Tab. 11).

Der von anderen Autoren verwendete Begriff der “*assimilatory power*” ist ein Ausdruck für das gesamte während der Lichtreaktion der Photosynthese gebildete Reduktions- (PN) und Energiepotential (AdN) (HEBER *et al.*, 1986, 1987 und 1990; LAWLOR, 1990; FOYER *et al.*, 1990; GERST *et al.*, 1994; KITZMANN, 1996) und fasst damit die Aussagen von ARC und EC zusammen.

4.2.2 ENERGIE- UND REDUKTIONSSTATUS WÄHREND DER *STEADY STATE*-PHOTOSYNTHESE UNTER LICHT- BZW. CHLOROPHYLL-MANGEL

Wie in Kap. 4.1 gezeigt, resultieren ein reduziertes Lichtangebot während der Anzucht in den LL-Pflanzen bzw. ein verminderter Chl-Gehalt der veränderten Chl-Biosynthese in den TF in einer verringerten Lichtabsorption der Blätter (Abb. 17) und damit in einer verminderten ETR (HANSEN, unpubliziert). Somit wäre zu vermuten, dass unter beiden Bedingungen NADPH⁺H⁺ und/oder ATP aus den Lichtreaktionen in limitierenden Mengen für die nachfolgenden Stoffwechselprozesse zur Verfügung stehen und somit u. a. in geringeren CO₂-Aufnahmeraten (Abb. 19 und 24A) resultieren. Vor allem unter Lichtmangel kann ein vermindertes, z. T. sogar begrenzendes Angebot an Energie- bzw. Reduktionsequivalenten die CO₂-Assimilation beeinflussen (SHARKEY, 1985; LAWLOR, 1990). Von KITZMANN (1996) wurde jedoch gezeigt, dass der reduktive Teil des Calvin-Zyklus selbst unter extremer Belastung der ETK keinerlei Limitierung durch unzureichend bereitgestelltes NADPH⁺H⁺ unterliegt und eine Elektronenlimitierung nur durch eine erhöhte Aktivität elektronenverbrauchender Prozesse eintreten kann. Auch andere Autoren (HEBER, 1973; KRAUSE und HEBER, 1976; OSTROVSKAJA, 1982;

NICOLAI, 1990; TABRIZI *et al.*, 1994; PFEFFER, 1997) gehen davon aus, dass im Prozess der Photosynthese weniger das NADPH^+H^+ als vielmehr das synthetisierte ATP limitierend wirkt. Jedoch führt ein ATP-Defizit automatisch zu einem verminderten NADPH^+H^+ -turnover und zu einer Unterdrückung des nichtzyklischen Elektronentransport (FOYER *et al.*, 1990). Aufgrund des notwendigen Gleichgewichtes zwischen endergonischen und exergonischen Reaktionen führt solch eine ATP-Limitierung dazu, dass die endergonischen Prozesse nur in dem Ausmaß ablaufen, welches durch die Energiefreisetzung der ATP-Spaltung gedeckt ist. Andererseits kann teilweise eine Erhöhung der Energetisierung der Thylakoidmembran durch zusätzliche PSI-Akzeptoren, wie z. B. Mehler-Reaktion und NO_3^- -Metabolismus, dazu beitragen, das durch den Elektronenfluss ungenügend für den Calvin-Zyklus bereitgestellte ATP zu liefern (VANSELOW, 1993; HANSEN *et al.*, 1993).

Als sättigende Lichtintensität für die ATP-Synthesekapazität wurden für *Vicia faba* PPFD's von mehr als $250 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ bestimmt (NIKOLAEVA, 1994). Infolge der Langzeitadaptation des photosynthetischen Apparates war die Menge des $\text{CF}_0\text{-CF}_1$ -Komplexes (WILD *et al.*, 1986) sowie die Rate der nichtzyklischen Photophosphorylierung und der ATP-Synthese in *Sinapis alba* um ca. das 2fache (RÜHLE und WILD, 1985) und die Photophosphorylierungsrate in *Vicia faba* um ca. 25 % (NIKOLAEVA, 1994) in HL- größer als in LL-Blättern. In HL-Chloroplasten von *Sinapis alba* erfolgte die Photoreduktion von NADP^+ ca. 1.5mal schneller als in LL-Chloroplasten (BOARDMAN, 1977). Dementsprechend zeigten die in dieser Arbeit untersuchten Blätter der unter $30 \mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ angezogenen Pflanzen im Vergleich zu denen der HL-Varianten parallel zu ihren verminderten Photosynthese- (Abb. 19 und 24A) und Wachstumsraten (Abb. 8, 9 und 12, Tab. 3 und 4) signifikant (mit $p < 0.001$) geringere *steady state*-Gehalte des Gesamt-AdN-Pools (um 61 - 77 %) und an ATP (um 51 - 71 %) (Abb. 27) sowie des totalen PN-Pools (um 59 - 83 %) und an NADPH^+H^+ (um 44 - 71 %) (Abb. 29). Auch bei kurzzeitigen Lichtänderungen, wie z. B. einem Dunkel-Licht-Transfer von *Beta vulgaris* (RAO *et al.*, 1990) oder *Spinacia oleracea* (BONZON *et al.*, 1981 und 1983), finden parallel zu einem Anstieg der CO_2 -Aufnahmeraten eine Erhöhung der Menge des totalen $\text{NADP(H}^+\text{H}^+)$ -Pools im Blatt sowie ein Anstieg des Blattgehaltes an ATP, verbunden mit einer Erhöhung des Gesamt-AdN-Pools, im Blatt statt. Dies ist zweifelsohne eine Folge der induzierten und ansteigenden photosynthetischen ET- und Phosphorylierungsraten, jedoch erfolgt die Ansammlung von ATP im Licht zusätzlich infolge einer Nettoakkumulation aller Adenylate und die von NADPH^+H^+ zusätzlich infolge einer lichtgetriebenen Phosphorylierung von NAD^+ zu NADP^+ und somit einem Anstieg des Gesamt- $\text{NADP(H}^+\text{H}^+)$ -Pools (RAO *et al.*, 1990). Generell korrelieren hohe AdN-, v. a. ATP-levels mit hohen metabolischen Aktivitäten

(KRAUSE, 1975; FADER und KOLLER, 1984; RAYMOND *et al.*, 1987; BRIX und SORRELL, 1996) oder aktivem Wachstum (MANGAT, 1982) und niedrigere Adenylatmengen wurden unter limitierenden (Stress-)Bedingungen gefunden (Lit. bei RAYMOND *et al.*, 1987). Bei Untersuchungen an *Beta vulgaris* zur Tagesrhythmik (RAO *et al.*, 1990) und Nährstoff-Versorgung (RAO und TERRY, 1994) bzw. zur Funktion verschiedener Pflanzenteile (PAVLINOVA und AFANASJEVA, 1962) ergab sich ebenso, dass Gewebe unter Bedingungen einer verstärkten Stoffwechselaktivität entsprechend höhere Nucleotidmengen (AdN und PN) besitzen. Auch in isolierten Chloroplasten von *Spinacia oleracea* (KITZMANN, 1996) standen höhere AdN- und PN-Poolgrößen im Zusammenhang mit einer verstärkten photosynthetischen Leistung. RAYMOND *et al.* (1987) behaupten jedoch, dass sinkende AdN-*levels* eher eine Konsequenz als die Ursache von sinkenden metabolischen Aktivitäten sind. Höhere plastidäre ATP-, aber konstante NADPH^+H^+ -Gehalte bei durch steigende LI zunehmenden Photosyntheseraten wurden auch von GERST *et al.* (1994) in *Spinacia oleracea* gefunden. Dagegen blieben die Poolgrößen von ATP und ADP in Nadeln von *Picea abies* durch Änderungen der Lichtintensität von 60 bis 1500 $\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ unbeeinflusst (WEIDMANN *et al.*, 1990).

In den in vorliegender Arbeit untersuchten transgenen Tabakpflanzen fand sich im Unterschied zu den durch Lichtmangel gestressten Pflanzen keine klare und einheitliche, den verminderten ET- und Photosyntheseraten entsprechende Tendenz in den Nucleotidgehalten (Abb. 27 und 29). Bei Anzucht der Pflanzen unter 300 $\mu\text{mol Quanten m}^{-2} \text{s}^{-1}$ waren zwar die Gehalte an PN bzw. NADPH^+H^+ in allen TF gegenüber dem WT vermindert (Abb. 29), doch die Menge des Adenylat-Pools bzw. ATP war in den #57 und #25 höher als in den Pflanzen der SNN und erst ein extremer Chl-Mangel, wie er in den Pflanzen der #42 vorlag, führte zu verringerten Gehalten an AdN bzw. ATP (Abb. 27). In den unter Schwachlicht angezogenen Pflanzen der #57 und #25 fanden sich dagegen Nucleotidmengen, die sich nicht wesentlich von denen in WT-Blättern unterschieden und nur in den Blättern der #42 waren diese Gehalte signifikant erhöht. Möglicherweise können hier die Effekte des vorherrschenden Lichtmangels, der zu einer eindeutigen Verminderung der Nucleotidgehalte in den LL-Pflanzen führte (s. o.), die Auswirkungen des Chl-Defizits überdecken. Jedoch erklärt das nicht, dass auch unter HL-Bedingungen die AdN-Gehalte in den weniger chlorophylldefizienten TF (#57 und #25) im Vergleich zum WT erhöht waren. Auch in der Literatur gibt es bezüglich der Nucleotidmengen in Pflanzen mit variierendem Chlorophyll-Gehalt nur wenige, z. T. widersprüchliche Ergebnisse. So zeigten SOLDATINI *et al.* (1998) in panaschierten Blättern von *Hedera canariensis*, dass in den weißen Gewebeabschnitten zwar bei funktionierender ETK ATP und NADPH^+H^+ gebildet werden kann, allerdings in viel geringerem Umfang als in den grünen

Blattarealen. Bei chlorophyll-defizienten TF von *Pisum sativum* mit verminderten CO₂-Aufnahme- und O₂-Freisetzungsraten stellte sich heraus, dass ein mit einer verringerten Rate der zyklischen Photophosphorylierung verbundenes ATP-Defizit teilweise durch eine Aktivierung der nichtzyklischen Photophosphorylierung kompensiert wird (VAISHLYA *et al.*, 1998). Eine Erhöhung des photosynthetischen ATP-Pools, wie sie in verschiedenen chl-Mangel-Mutanten von *Pisum sativum* beobachtet wurde, könnte außerdem durch eine Zunahme der Kopplungszentren in der Thylakoidmembran verursacht sein (ROSHCHINA *et al.*, 1983; SCHWARZ, 1983; VAISHLYA *et al.*, 1998). So wurde von KRENDELEVA *et al.* (1996) ebenfalls in chl-armen Mutanten von *Pisum sativum* eine in Relation zum chl-Gehalt erhöhte H⁺-ATPase-Aktivität gemessen. Verschiedene Autoren fanden dagegen keine Unterschiede im Adenylat- (LEWENSTEIN und BACHOFEN, 1972; KRAUSE, 1975) und Pyridinnucleotidspiegel (PEINE *et al.*, 1990) in grünen und etiolierten Pflanzen und erklären dies mit der Existenz von wirksamen Regelsystemen bzw. mit einer hohen Pufferkapazität zur Bereitstellung von ATP und NADPH⁺H⁺ auf der Grundlage innerer Reserven. Aber auch unter der Wirkung anderer Stressoren, die zu einer eingeschränkten bzw. inhibierten Photosynthese führten, wurden keinerlei Änderungen im zellulären AdN- bzw. ATP-Pool gefunden (QUICK *et al.*, 1989; QUICK *et al.*, 1991; WEIDMANN *et al.*, 1990).

Aufgrund der Tatsache, dass die Verringerung der ATP- (um 51 - 71 %; Abb. 27) und NADPH⁺H⁺-Gehalte (um 44 - 71 %; Abb. 29) durch Schwachlicht-Bedingungen nicht so drastisch wie die Reduzierung von JCO₂ (um 79 - 87 %; Abb. 24A) und der Blatt-Wachstumsraten (um 47 - 86 %; Tab. 4) war bzw. unter chl-Mangel gar keine parallele Entwicklung dieser Werte nachgewiesen werden konnte, ist zu bezweifeln, dass die gemessenen CO₂-Assimilationsraten während der *steady state*-Photosynthese allein auf eine Limitierung durch eine nicht ausreichende Versorgung mit ATP und Reduktionsequivalenten zurückzuführen ist. Hierbei spielt die regulatorische Funktion der Nucleotide, v. a. über Änderungen in deren Poolrelationen, wie schon in Kap. 4.2.1 erwähnt, wohl die entscheidendere Rolle. Dabei sind die Prozesse in der Zelle hochreguliert und so sensibel aufeinander abgestimmt, dass für eine Regulation im *steady state* der Photosynthese umfangreiche Änderungen in PN- und AdN-Pool mit Extremwerten des PN-Reduktions- und des AdN-Energiestatus bzw. des NADPH⁺H⁺/NADP⁺- und des ATP/ADP-Verhältnisses und damit der *assimilatory power* nicht erforderlich sind und diese über einen weiten Bereich der Lichtintensitäten und des Metabolitenstatus relativ konstant sind (SHARKEY, 1985; FOYER *et al.*, 1990; HAAG und RENGGER, 1993; KITZMANN, 1996). Diese Komponenten werden demnach gegen Modulationen des PSII auf der einen Seite und die Aktivitäten des Calvin-Zyklus auf der anderen Seite abge-

puffert (FOYER *et al.*, 1990). Dabei sind die Flüsse von ATP und von NADPH^+H^+ in den C-Metabolismus unabhängig voneinander über unterschiedliche Mechanismen regulierbar (SCHEIBE, 1987). Die in Tab. 10 und 11 dargestellten Ergebnisse belegen diese hohe Stabilität des EC und des PN-Redoxstatus (ARC, CRC, RC). Auch unter extremem Licht- bzw. chl-Mangel lag der EC-Wert nur um 0.14 bzw. 0.06 höher als der Kontrollwert von 0.66 in der SNN-HL (Tab. 10) und somit in dem für aktive Zellen typischen Bereich (s. S. 113). Die maximale Auslenkung der Parameter zur Charakterisierung des Redoxstatus der Zelle, konkret des ARC zwischen 0.32 und 0.55, des CRC zwischen 0.06 und 0.13 und des RC zwischen 0.25 und 0.43 (Tab. 11) belegt, dass unter den gewählten Versuchsbedingungen der PN-Pool im *steady state* der Photosynthese ebenfalls keine Extremwerte erreichte, sondern in dem für aktive metabolische Zellen charakteristischen Bereich lag (s. S. 114).

Jedoch bewirken schon geringfügige Änderungen des EC bzw. RC eine sehr sensible Reaktion zur Balancierung von Energieaufnahme und -verwertung und sind auch im *steady state* der Photosynthese als eine Reaktion auf veränderte Bedingungen zu werten. Unter den vorherrschenden Lichtmangelbedingungen lag eine größere Kapazität für ATP- und NADPH^+H^+ -verbrauchende Prozesse vor als in den entsprechenden HL-Pflanzen. Das beweisen die in den unter Schwachlicht angezogenen Tabakpflanzen signifikant (mit $p < 0.01$) höheren Werte für das ATP/ADP-Verhältnis (Tab. 10) und den EC (Tab. 10), für das $\text{NADPH}^+\text{H}^+/\text{NADP}^+$ -Verhältnis (Tab. 12) bzw. das Gesamt-Verhältnis der reduzierten zu den oxidierten PN ($\text{NAD(P)H}^+\text{H}^+/\text{NAD(P)}^+$) (Tab. 12), für den ARC bzw. RC (Tab. 11) sowie dementsprechend der größere prozentuale Anteil von ATP (Abb. 28) und NADPH^+H^+ (Abb. 30) am jeweiligen Gesamtpool. In den transgenen Pflanzen der #57 waren die genannten Parameter unter beiden Anzucht-Lichtintensitäten nicht signifikant unterschiedlich zum entsprechenden WT. In den chl-ärmeren TF jedoch zeichnete sich die Tendenz zu einer Erhöhung v. a. der PN-Parameter (mit mind. $p < 0.05$, meist aber mit $p < 0.001$), aber auch der AdN-Parameter (allerdings oft nicht signifikant) ab. Generell soll das ATP/ADP-Verhältnis in nichtgrünen Zellen größer sein als in grünen Zellen (RAYMOND *et al.*, 1987). Das bedeutet, dass in den Blättern der Schwachlicht-Varianten sowie in den chlorophylldefizienten Blättern der durch die verminderte Lichtabsorption und ETR entstandene Energiemangel letztendlich zu einer *down-Regulation* nach dem Prinzip der Ausbalancierung von ATP- und NADPH^+H^+ -Angebot und -Verbrauch *via feedforward*-Modulation (s. Kap. 4.2.1) führte und somit in einer wesentlichen Reduzierung der energieverbrauchenden Prozesse, wie z. B. die Aktivitäten des Calvin-Zyklus oder die Kohlenhydrat- und Protein-Biosynthese (Abb. 24A, 32, 33 und 35) resultierte. Somit war das ATP/ NADPH^+H^+ -Verhältnis in den LL- bzw. transgenen Pflanzen nicht wesentlich

verändert, die lineare Beziehung zwischen ATP und NADPH^+H^+ blieb weitestgehend aufrechterhalten ($r^2 = 0.8936$; Werte aus Abb. 27 und 29). Sogar noch unter Extrembedingungen, die zu einer starken Einschränkung der chloroplastidären Prozesse führen, können starke Schwankungen des ATP/ NADPH^+H^+ -Verhältnisses durch eine parallele Hemmung der hauptsächlich am Umsatz der PN und AdN beteiligten Stoffwechselsequenzen verhindert werden (KITZMANN, 1996).

Ein steigender EC-Wert bei einer starken Reduzierung von NADPH^+H^+ und der ETR wurde auch von LAWLOR (1990) beschrieben. Mit sinkender Photosyntheserate steigt der *energy charge* an, maximale EC-level wurden erreicht, wenn die ETR am stärksten inhibiert war (GILMORE und BJÖRKMAN, 1994). Hohe Photosyntheseraten bedingen eine Stabilisierung der *assimilatory power* der Kohlenstoff-Assimilation auf einem niedrigen Niveau (DIETZ und HEBER, 1986; HEBER *et al.*, 1986; SIEBKE *et al.*, 1990), dementsprechend werden auch ARC und EC niedrig stabil gehalten (KITZMANN, 1996). Umgekehrt steigt die *assimilatory power* bei sinkenden Photosyntheseflüssen entweder durch erhöhte NADP^+ -Reduktion und/oder ADP-Phosphorylierung (HEBER *et al.*, 1990; GERST *et al.*, 1994).

Auch unter dem Einfluss anderer Stressfaktoren zeigte sich, meist parallel zu verminderten AdN- bzw. PN-Poolgehalten sowie einer eingeschränkten Photosyntheseleistung, dass der EC und das ATP/ADP-Verhältnis sowie der RC und das Verhältnis $\text{NADPH}^+\text{H}^+/\text{NADP}^+$ erhöht, zumindestens aber konstant im Vergleich zur jeweiligen Kontrolle ist; wie z. B. unter Salzstress bei *Sonneratia alba* (AKATSU *et al.*, 1996), Kältestress gekoppelt mit HL bei *Lactuca sativa* (GILMORE und BJÖRKMAN, 1995), Kältestress bei *Hordeum vulgare* (PÄRNIK *et al.*, 1995), Ozon und SO_2 -Stress bei Nadeln von *Picea abies* (WEIDMANN *et al.*, 1990), CO_2 -Mangelbedingungen für *Gossypium hirsutum* und *Aegialitis annulata* (GILMORE und BJÖRKMAN, 1994), bei Belichtung von Etioplasten von *Avena sativa* (PEINE *et al.*, 1990), Verdunklungsversuchen (RAO *et al.*, 1990) und Phosphatmangel bei *Beta vulgaris* (RAO und TERRY, 1994), Verwundung von *Bidens pilosa* (HENRYVIAN *et al.*, 1996) und einem experimentell reduzierten RubisC/O-Gehalt in *Nicotiana tabacum* (QUICK *et al.*, 1991). Somit wird deutlich, dass der AdN- und PN-Stoffwechsel in der Reaktion der Pflanzen auf die unterschiedlichsten Stressfaktoren - sehr wahrscheinlich über die gleichen Regulationsmechanismen (s. S. 133 ff., Abb. 38) - eine zentrale Rolle spielt. Erhöhte ATP/ADP-Verhältnisse, die in vielen Fällen parallel mit einer Zunahme der EC-Werte auftreten, wurden von ATKINSON (1977) und WEIDMANN *et*

al. (1990) als ein Indikator für eine erhöhte anabolische Aktivität interpretiert. Die in dieser Arbeit gezeigten Ergebnisse der CO₂-Assimilation, der Gehalte an Kohlenhydraten und Stärke sowie an Proteinen weisen jedoch nicht darauf hin, dass der anabole Stoffwechsel in den Licht- bzw. Chlorophyll-Mangelpflanzen gegenüber den Kontrollpflanzen absolut erhöht war. Zumindest könnte man aber die höheren ATP/ADP-Verhältnisse und EC-Werte in den Blättern der LL- und transgenen Pflanzen im Sinne von ATKINSON (1977) und WEIDMANN *et al.* (1990) dahingehend werten, dass die anabolischen relativ zu den katabolischen Stoffwechselwegen aufgrund einer *down*-Regulation letzterer Prozesse zugenommen haben (s. Kap. 4.3).

Die Aussage, dass die erhöhten Werte des Energie- und Reduktionsstatus in den Mangelpflanzen auf eine *down*-Regulation der energieverbrauchenden Prozesse mittels *feedforward*-Modulation hinweisen, wird durch die Tatsache bekräftigt, dass die Aktivitäten einer Vielzahl von zentralen Enzymen in ATP-verbrauchenden Reaktionen des C- und N-Stoffwechsels an die verfügbare ATP- und NADPH⁺H⁺-Menge angepasst (GEIGER und SERVAITES, 1994) bzw. durch den EC der Zelle direkt kontrolliert werden (ATKINSON und FALL, 1967; HOFFMANN, 1982 und 1985; FOYER *et al.*, 1990; KITZMANN, 1996). Vor allem die Aktivität der RuBP-Carboxylase wird über die RubisC/O-Aktivase durch die Verfügbarkeit von ATP und das ATP/ADP-Verhältnis im Stroma reguliert (STREUSAND und PORTIS, 1987; ROBINSON und PORTIS, 1988; QUICK *et al.*, 1991; ECKARDT *et al.*, 1997). Für die *steady state*-Modulation der Photosynthese sind außerdem die FBPase und die PGK entscheidende Kontrollstellen im Calvin-Zyklus, die maßgeblich in die Abstimmung von Bereitstellungs- und Verbrauchsreaktionen für Reduktionsequivalente und ATP sowie die Verteilung der primären Assimilationsprodukte einbezogen sind (KITZMANN, 1996). Die Regulation der Aktivität und der Proteinmenge von Enzymen der CO₂-Fixierung durch das Lichtregime (Photokontrolle) - einer der Regelmechanismen der CO₂-Fixierung - wird über Redoxsysteme, wie z. B. das NADP⁺/NADPH⁺H⁺-Paar, realisiert (KLUGE, 1977; DANON und MAYFIELD, 1994).

Die Ergebnisse zur *in vivo*-Aktivität und zum Aktivierungsstatus der im Chloroplasten lokalisierten NADP⁺-abhängigen MDH (Abb. 31, Tab. 13) - als ein metabolischer Indikator für den Reduktionsstatus des stromalen NADP⁺-Pools in C₃-Pflanzen (u. a. SCHEIBE und STITT, 1988; SCHEIBE, 1990; FOYER *et al.*, 1990; BATINI *et al.*, 1995; GRACE und LOGAN, 1996) - scheinen nur auf den ersten Blick widersprüchlich zu den PN-Parametern zu sein. In den durch Chlorophylldefizienz bzw. Schwachlicht beeinflussten Tabakpflanzen wurden bei einer

stärkeren Reduzierung des $\text{NADP}(\text{H}^+\text{H}^+)$ -Pools, indiziert durch ein höheres $\text{NADPH}^+\text{H}^+/\text{NADP}^+$ -Verhältnis (Tab. 12) sowie einen größeren Pool-Anteil von NADPH^+H^+ (Abb. 30), ein geringerer Aktivierungszustand der NADP^+ -MDH (Tab. 13) bzw. unter LL auch verminderte absolute *in vivo*- und Vollaktivitäten (Abb. 31) gemessen. Im Gegensatz dazu wurde jedoch von mehreren Autoren gezeigt, dass der Aktivierungszustand dieses Enzyms (A/VA) mit einem steigenden $\text{NADPH}^+\text{H}^+/\text{NADH}^+\text{H}^+$ -Verhältnis zunimmt (SCHEIBE, 1987 und 1990; GRACE und LOGAN, 1996; HELDT, 1996). Dieses ist der Fall unter Stressbedingungen, die zu einem Überschuss an Produkten der Lichtreaktionen der Photosynthese und somit zu einer Diskrepanz zwischen NADPH^+H^+ -Angebot und -Verbrauch führen und erklärt sich durch die Funktion des Enzyms als Ventil für überschüssige Reduktionsequivalente, um so das für eine optimale C-Reduktion im Licht geforderte $\text{ATP}/\text{NADPH}^+\text{H}^+$ -Verhältnis aufrechtzuerhalten (SCHEIBE, 1987 und 1990; BIEHLER *et al.*, 1996; GRACE und LOGAN, 1996; HELDT, 1996; VAISHLYA *et al.*, 1998). Das erscheint um so notwendiger, da das während der Photosynthese bereitgestellte NADPH^+H^+ eher im Überschuss vorliegt als das ATP oder *vice versa* das ATP eher als das NADPH^+H^+ limitierend wirkt (s. S. 114 f.). Unter Normal- bzw. Mangelbedingungen, v. a. unter limitierendem Licht, kann daher ebenso eine bestimmte *in vivo*-Aktivität dieses Enzyms nachweisbar sein (SCHEIBE und STITT, 1988). Außerdem agiert die NADP^+ -MDH nicht nur als "Überdruck- bzw. *overflow*-Ventil", sondern spielt auch für den Export von Reduktionsequivalenten in Form von Malat aus dem Chloroplasten zur Versorgung des Zytosols, z. B. für photorespiratorische Prozesse, selbst unter nichtexzessiven Bedingungen, *in vivo* eine Rolle (SCHEIBE, 1987 und 1990; SCHEIBE und STITT, 1988; IVANITSEV und KURGANOV, 1993; PREISS *et al.*, 1994; HELDT, 1996). Der durch einen verminderten photosynthetischen Elektronenfluss infolge des Defizits an Chlorophyll bzw. PPFD in den Tabakpflanzen entstandene Mangel an ATP und NADPH^+H^+ kann als Resultat der Langzeitadaptation mittels einer *down*-Regulation von Energie- und Reduktionsequivalente-verbrauchenden Reaktionen kompensiert werden. Zu letzteren zählt auch das Malatventil, so dass in den LL- und transgenen Pflanzen eine Verringerung der *in vivo*-Aktivität in Relation zur Vollaktivität (Tab. 13), unter Lichtmangelbedingungen auch der absoluten Aktivitäten (Abb. 31) gefunden wurde. Niedrigere Werte für die Aktivität bzw. den Aktivierungsstatus der NADP^+ -abhängigen MDH bei verminderten ET- bzw. Photosyntheseraten durch verringerte Lichtintensitäten wurden ebenfalls in *Pisum sativum* (BOARDMAN, 1977; FOYER *et al.*, 1990), in *Spinacia oleracea* (SCHEIBE und STITT, 1988), in *Gossypium hirsutum* (IVANITSEV und KURGANOV, 1993), in *Triticum sp.* (BIEHLER, 1995) sowie in *Vinca major*, *Schefflera arboricola* und *Mahonia repens* (GRACE und LOGAN, 1996) nachgewiesen, wobei aber auch bei sehr hohen PPFD's ein Aktivierungsstatus von 30 % der maximalen Aktivität nicht überschritten wurde (FOYER *et al.*, 1990; GRACE und LOGAN, 1996). Die um bis zu 70 % verminderten Aktivitäten der NADP^+ -MDH in beschatteten Bohnenpflanzen führte BOARDMAN (1977) z. T.

auf die generelle Reduzierung des gesamten zellulären Metabolismus unter diesen Bedingungen zurück. Die Verminderung der MDH-Aktivitäten kann letztendlich neben der Reduzierung anderer NADPH^+H^+ -verbrauchender Reaktionen zu einem Anstieg des $\text{NADPH}^+\text{H}^+/\text{NADP}^+$ -Verhältnisses (Abb. 12) - z. T. sogar höher als in den jeweiligen Vergleichspflanzen - und somit zu einer Aufrechterhaltung der für den Ablauf der photosynthetischen Prozesse notwendigen $\text{NADPH}^+\text{H}^+/\text{NADP}^+$ und $\text{ATP}/\text{NADPH}^+\text{H}^+$ -Verhältnisse unter *steady state*-Bedingungen beitragen.

Desweiteren stellt sich die Frage, ob eine eventuelle Kompensation der verminderten Energiebereitstellung bei reduzierter Photosyntheseleistung durch die mitochondriale Atmung stattfinden könnte, wie z. B. von HOFFMANN (1985), LAWLOR (1990) und KRÖMER (1995) vorgeschlagen wurde. Obwohl die Frage nach den Mechanismen bisher noch weitgehend ungeklärt ist, gehen die meisten Autoren davon aus, dass im Licht eine Inhibierung der mitochondrialen Atmung um 25 bis 70 % stattfindet (PEISKER und APEL, 1980; APEL und PEISKER, 1995; KRÖMER, 1995; ATKIN *et al.*, 1997). Auch in den Pflanzen der SNN und der TF war - mit Ausnahme der SNN und #57 unter LL - im Rahmen der Gültigkeit des angewandten Modelles die mitochondriale Atmung in sättigendem Licht gehemmt (REINHARDT, 1996). Es bleibt zu klären, wie sich dieses unter Anzuchtbedingungen verhält. Die Raten der Dunkelrespiration in den Schwachlicht- und transgenen Tabakpflanzen (Abb. 23) waren jedoch schon geringer als in den entsprechenden Kontrollpflanzen. Daher ist es wenig wahrscheinlich, dass die höheren Werte für den EC und das ATP/ADP -Verhältnis von einer verstärkten respiratorischen Tätigkeit herrühren, zumal der CRC und das $\text{NADH}^+\text{H}^+/\text{NAD}^+$ -Verhältnis (Tab. 11 und 12) ebenfalls eine sinkende Tendenz unter den vorherrschenden Mangelbedingungen aufweisen und somit für eine verminderte Kapazität der mitochondrialen ETK sprechen.

4.2.3 SCHLUSSFOLGERUNG

Aus den hier diskutierten Ergebnissen zum Energie- und Reduktionsstatus unter *steady state*-Bedingungen der Photosynthese in den Tabakpflanzen unter Licht- bzw. Chlorophyllmangel ergibt sich die Schlussfolgerung, dass die verminderten CO₂-Aufnahme-, Wachstums- und Entwicklungsraten letztendlich nicht nur durch eine ständige unzureichende Bereitstellung von ATP und NADPH⁺H⁺ aus den Lichtreaktionen in den Thylakoiden für die reduktiven Prozesse im Stroma bedingt waren. Es ist eher der Fall, dass infolge des primär verminderten photosynthetischen Energieflusses und der damit verbundenen verringerten Produktion an ATP und NADPH⁺H⁺ via *feedforward*-Kontrolle eine *down*-Regulation von Energie- und Reduktionsequivalente-verbrauchenden Prozessen erfolgte. Zu letzteren zählt auch die Aktivität der NADP⁺-abhängigen MDH. In den stark durch Chlorophyll- und/oder Lichtmangel gestressten Pflanzen ergab sich infolge dessen sogar noch eine Reserve für die exergone Kapazität des Metabolismus. Die Balancierung von ATP und NADPH⁺H⁺-Angebot und -Verbrauch ist ein wesentliches Grundprinzip im pflanzlichen Metabolismus unter veränderten, z. T. extrem belastenden Bedingungen und dient der Erhaltung der energetischen Homöostase.

Eine Kompensation des Energiemangels durch die mitochondriale Atmung scheint dabei nur eine untergeordnete Rolle zu spielen.

4.3 KOMPENSATIONS- UND REGULATIONSMECHANISMEN IM PFLANZLICHEN STOFFWECHSEL

Wie aus den vorangegangenen Kapiteln hervorgeht, bewirken sowohl Chlorophyll- als auch Lichtmangel im Stoffwechsel der untersuchten Pflanzen von *Nicotiana tabacum* generell eine Substrat- bzw. Energielimitierung und rufen nachfolgend eine *down*-Regulation mittels *feed-forward*-Modulation hervor. Dabei wird jedoch deutlich, dass das Ausmaß dieser Drosselung der verschiedenen Stoffwechselprozesse und -parameter unterschiedlich ist. Schon WILLSTÄTTER und STOLL (1918), nachfolgend auch andere Autoren (TIETZE, 1963; JENKINS *et al.*, 1989; KRENDELEVA *et al.*, 1996; Tab. 16) beobachteten bei chlorophyllarmen Formen, dass im Vergleich zu den normalgrünen Pflanzen die CO₂-Assimilationsraten weniger drastisch reduziert waren als der Chlorophyllgehalt. Auch unter Lichtmangelbedingungen zeigte sich, dass das Angebot an eingestrahelter PPFD (10 % von HL) stärker als die physiologischen Charakteristiken der Versuchspflanzen im Vergleich zu den Kontrollpflanzen vermindert war (Tab. 15).

In Tab. 17 sind einige der wichtigsten, in dieser Arbeit untersuchten physiologischen Prozesse “vom Licht zum Wachstum” (s. Abb. 36) aufgeführt. Dabei wurden die Tabakpflanzen, die unter extremem Chlorophyllmangel (#42-HL), die nur unter Lichtmangel (SNN-LL) bzw. die unter dem Einfluss beider Stressoren (#42-LL) angezogen wurden, ausgewählt und die entsprechenden Werte jeweils in Relation zur Kontrolle (SNN-HL) angegeben. Bei der Betrachtung der Daten in Hinsicht auf eine Wechselwirkung zwischen der Komplexität des betrachteten Stoffwechselvorganges und dem Ausmaß der Auswirkung der untersuchten Stressoren wird schnell folgende Tendenz deutlich:

Je höher der betrachtete Prozess in der Hierarchie im pflanzlichen System eingeordnet ist, d. h. je komplexer der Stoffwechselprozess, desto größer der Wert in Relation zur Kontrolle, d. h. desto schwächer die Wirkung der untersuchten Stressoren!

Aufgrund dieser Erkenntnis kann folgende Hypothese formuliert werden:

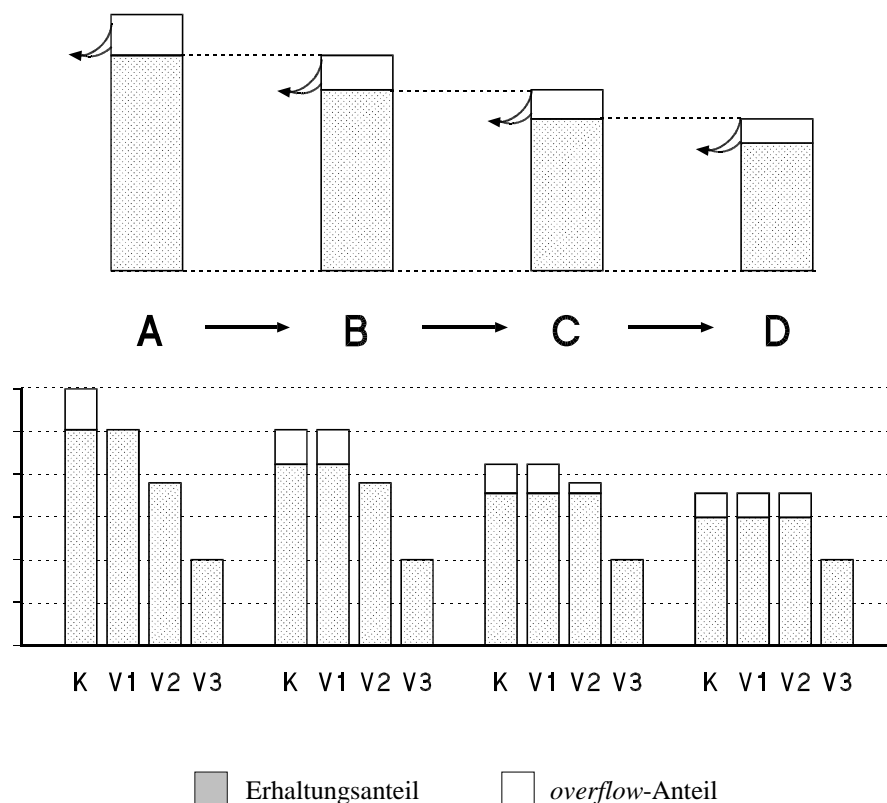
Je höher der betrachtete Prozess in der Hierarchie im pflanzlichen System eingeordnet ist, d. h. je komplexer der Stoffwechselprozess, desto größer die Kapazität zur Kompensation der Wirkung des Stressors!

Tab. 17 Relation ausgewählter Stoffwechselfparameter (Raten durch Unterstreichung hervorgehoben) auf verschiedenen Hierarchie-Ebenen (lt. Abb. 36) von *Nicotiana tabacum* unter Chlorophyll- (#42-HL) oder Lichtmangel (SNN-LL) sowie Chlorophyll- und Lichtmangel (#42-LL) zu denen der Kontrollpflanzen (SNN-HL). Die Daten stammen aus den Abb. 6, 16, 24A, 25, 33A und 35 sowie den Tab. 3, 4 und 5, die Werte für die ETR von HANSEN (unpubliziert).

Hierarchie-Ebene	Stoffwechsel-Parameter	Chl-Mangel	Licht-Mangel	Chlorophyll - und Licht-Mangel
		#42-HL	SNN-LL	#42-LL
[SNN-HL = 100 %]				
äußerer Stressfaktor	eingestrahlte PPFD	100	10	10
innerer Stressfaktor	Chlorophyll (a+b)-Gehalt	8	52	11
photosynthetische Primärprozesse	<u>Lichtabsorptionsrate</u>	27	9	3
	<u>ETR</u>	21	10	5
Calvin-Zyklus	<u>CO₂-Aufnahmerate</u>	34	13	7
plastidäre und extraplastidäre Biosynthesen	Saccharose-Gehalt	26	6	7
	<u>Photorespirationsrate</u>	39	14	6
	Protein-Gehalt	44	16	19
source-Blatt	Blatt-Frischmasse	48	26	11
	<u>Blattflächen-Wachstumsrate</u>	69	53	10
	max. Blattfläche	73	64	17
gesamte Pflanze (oberirdische Biomasse)	<u>Gesamt-Blattflächen-Wachstumsrate</u>	70	54	8 ¹⁾
	max. Gesamt-Blattfläche	98	99	27 ¹⁾

¹⁾ Der Wert der #42-LL ist im Vergleich zu denen der anderen Varianten nicht gemessen, sondern über eine Modellkurve (Abb. 9) extrapoliert worden, da diese Pflanzen zum Abschluss der einzelnen Versuche ihr Wachstum nicht beendet hatten. Möglicherweise ergibt sich daraus eine Unterschätzung des realen Wertes.

Dieser steigenden Kompensationskapazität innerhalb des hierarchischen Systems können verschiedene Mechanismen zugrunde liegen. So würde dies durch die Existenz eines sogenannten “**overflow-Anteiles**” neben dem hauptsächlichen “**Erhaltungsanteil**” eines Prozesses erklärbar sein. Ein Modell, welches diese Hypothese verdeutlichen soll, ist in Abb. 37 dargestellt.



oben: Zur Darstellung des *overflow*-Modells wird von 4 Prozessen (A, B, C, D) ausgegangen, die in unmittelbarem Zusammenhang zueinander stehen und unbeeinflusst von anderen Prozessen sind. Das absolute Messsignal, welches den jeweiligen Prozess quantitativ charakterisiert (Rate, Aktivität, Gehalt an Endprodukt), setzt sich für jeden Prozess jeweils aus dem Erhaltungs- und dem *overflow*-Anteil zusammen. Das Produkt des Erhaltungsanteiles des vorangegangenen Prozesses (Energie bzw. Materie) dient vollständig als Ausgangsprodukt für den nächsten Prozess. Infolge des Abfließens von Energie oder Substrat durch den *overflow*-Anteil verringert sich der absolute Energie- bzw. Metabolitengehalt innerhalb des Stoffwechselsystems.

unten: In den 3 Varianten (V1, V2, V3) ist infolge des Einwirkens eines Stressors der Prozess A in unterschiedlichem Ausmaß im Vergleich zur Kontrolle (K) reduziert.

In Variante 1 (V1) erfolgte diese Reduktion nur um den *overflow*-Anteil des Prozesses A, der notwendige Erhaltungsanteil ist nicht beeinflusst. Somit sind in den Prozessen B bis D keinerlei Auswirkungen erkennbar und es werden Messwerte gleich denen der Kontrolle erhalten.

In Variante 2 (V2) erfolgte die Reduktion des primären Prozesses A durch einen Stressor drastischer als in V1, so dass es zum "Aufbrauch" des *overflow*-Anteiles und zusätzlich zu einer Reduzierung des Erhaltungsanteiles kommt. Damit stehen für die nachfolgenden Prozesse B und C weniger Ausgangsprodukt zur Verfügung als notwendig und es kommt zu einer Reduzierung der Messgrößen in Relation zur Kontrolle. Jedoch kann in diesem Beispiel der Einfluss, der zur Senkung der Prozesse A bis C geführt hat, durch den *overflow*-Anteil eines jeden Prozesses im letzten hier dargestellten Prozess D aufgehoben werden und es ist keinerlei Veränderung des Messparameters im Vergleich zur Kontrolle nachweisbar.

In Variante 3 (V3) wurde der Prozess A so drastisch reduziert, dass diese Störung im Ablauf der hierarchisch nachfolgenden Prozesse nicht vollständig kompensiert werden kann. Allerdings zeigt sich: Je weiter die nachfolgenden Prozesse vom beeinflussten Prozess (A) entfernt sind, desto geringer ist die Auswirkung des Stressors! Somit zeigt V3 in den Prozessen A bis D ein prozentual zur Kontrolle stetig steigendes Messsignal.

Abb. 37 Schematische Darstellung des *overflow*-Modells auf Prozessebene (oben) und Konsequenzen dessen für Messdaten verschieden gestresster Varianten im Vergleich zur Kontrolle (unten)

Solch ein *overflow*-Anteil würde in seiner Funktion als Puffer bzw. als Ventil einen gewissen Teil an Energie bzw. Materie in jedem metabolischen Prozess abfließen lassen, der somit nicht der Versorgung der nachfolgenden Prozesse dienen kann. Die Flexibilität dieses Anteiles kann z. B. von der Belastung des pflanzlichen Metabolismus, aber auch vom Rang des Prozesses und von einer genetischen Determination abhängig sein. Das Wirken eines solchen Kompensationsmechanismus hätte zur Folge, dass die Strenge des Einflusses eines zur Reduzierung eines primären Prozesses führenden Stressors in der Hierarchie der nachfolgenden Prozesse immer mehr abgeschwächt werden kann. So ergibt sich in vorliegender Arbeit für den Vergleich von Stoffwechselraten der #42-HL prozentual zum SNN-HL folgende Entwicklung: Absorption (27 %) - CO₂-Aufnahme (34 %) - Blattflächen-Wachstumsrate (69 %) - Flächenwachstumsrate der gesamten Blattsubstanz (70 %). Dadurch akkumulierten die Tabakpflanzen der #42-HL trotz eines verminderten Chl-Gehaltes von 8 % dessen der SNN-HL und der daraus resultierenden geringeren Lichtabsorption letztendlich eine Gesamt-Blattfläche, die fast der von den WT-HL-Pflanzen ausgebildeten maximalen Fläche der Blätter entsprach (98 %) (3. Spalte in Tab. 17). Die Pflanzen der #42-LL, die sowohl durch eine gehemmte Chlorophyll-Biosynthese (11 % Chl-Gehalt dessen der SNN-HL) als auch durch ein mangelndes Lichtangebot während der Anzucht (10 % dessen für die SNN-HL) gestresst waren, erreichten zwar keine der Kontrolle adäquate maximale Gesamtblattfläche; es wurde aber die Strenge der Auswirkung der Stressoren im Stoffwechsel abgeschwächt und die Pflanzen entwickelten immerhin 27 % der Fläche aller Blätter, die von den Pflanzen der SNN-HL ausgebildet wurde (5. Spalte in Tab. 17).

Es ist weithin bekannt, dass Enzymaktivitäten, Prozessraten und Metabolitgehalte in Reaktion auf veränderte Bedingungen variieren können, ohne dabei Veränderungen anderer physiologischer Charakteristika im pflanzlichen Metabolismus hervorzurufen. Im Zusammenhang damit ist häufig die Rede von Schwellenwerten (z. B. LICHTENTHALER, 1996; BRUNOLD, 1996). Laut *overflow*-Modell (Abb. 37) entspräche der Erhaltungsanteil eines Prozesses dem sogenannten Schwellenwert, d. h. dem Wert, auf den Enzymgehalte und -aktivitäten, Stoffwechselraten etc. ohne nachweisbare Veränderungen im Stoffwechselgeschehen reduziert werden. So wurde von verschiedenen Autoren gezeigt, dass Pflanzen über höhere Aktivitäten von Calvin-Zyklus-Enzymen verfügen als sie unter moderaten Bedingungen benötigen. Eine Limitierung der CO₂-Assimilationsraten trat erst ein, wenn in Transformanten von *Solanum tuberosum* 36 % der Fructose-1,6-Bisphosphatase-Aktivität des WT (MUSCHAK *et al.*, 1997) sowie in TF von *Nicotiana tabacum* 43 % der RubisC/O- (QUICK *et al.*, 1991), 40 % der Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase- (PRICE *et al.*, 1995), 20 % der Phosphoribulokinase- (PAUL *et al.*,

1995) und 57 % der Sedoheptulose-1,7-Bisphosphatase-Aktivität des WT (HARRISON *et al.*, 1998) unterschritten wurde. Dagegen zeigten transgene Tabakpflanzen mit einer verminderten RubisC/O-Proteinmenge zwar eine reduzierte CO₂-Assimilationsrate, jedoch war eine Retardierung der Wachstumsrate erst unterhalb von 35 % des RubisC/O-Gehaltes des WT offensichtlich (KRAPP *et al.*, 1994). Eine 50 %ige Verminderung des Chlorophyll (a+b)-Gehaltes durch Mutation in *Zea mays*, einer C₄-Pflanze, bewirkte keinerlei Veränderungen der Photosyntheseraten und ausgewählter Aktivitäten von Calvin-Zyklus-Enzymen (JENKINS *et al.*, 1989). Eine Reduzierung der chloroplastidären NADP⁺-MDH in transgenen Pflanzen von *Nicotiana tabacum* führte unter natürlichen Anzuchtbedingungen erst unterhalb von 20 % des WT-levels zu Verzögerungen im Pflanzenwachstum (FASKE *et al.*, 1997). Jedoch zeigt sich vor dem Hintergrund des *overflow*-Modelles die Relativität der Bestimmung des tatsächlichen Schwellenwertes, da außer den konkreten gegebenen Versuchsbedingungen von entscheidender Bedeutung ist, welcher Prozess mit welcher (zeitlichen und räumlichen) Distanz im hierarchischen System zum primär reduzierten Prozess als Vergleich herangezogen wird.

Für die mitochondriale Atmung, die einerseits von der durch die Photosynthese tagsüber bereitgestellten Menge an Assimilaten abhängt, wäre ein solcher Erhaltungsanteil ebenso von Bedeutung, da sie andererseits im Dunkeln die einzige Energiequelle für die zellulären Prozesse darstellt. Auch andere Autoren weisen darauf hin, dass ein gewisser Teil der Dunkelrespiration für die Aufrechterhaltung des pflanzlichen Metabolismus notwendig ist ("Erhaltungsatmung") und unter Stressbedingungen nicht ohne starke Einschränkungen der pflanzlichen Überlebensfähigkeit unterschritten werden kann (HOFFMANN, 1985; MUSCHAK, 1997; GRIES *et al.*, 1998). Bei den unter den gegebenen Bedingungen angezogenen Tabakpflanzen scheint ein Wert von etwa 0.4 unter HL bzw. 0.1 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ unter LL für die Dunkelrespiration das Minimum darzustellen, da innerhalb der TF trotz progressiv abnehmender CO₂-Aufnahmeraten und verringerter Assimilatbereitstellung keine signifikant unterschiedlichen Werte für R_D gemessen wurden (Abb. 23). Daraus leitet sich auch ab, dass die transgenen und Schwachlichtpflanzen einen höheren Anteil an Stärke während der Dunkelphase abbauen bzw. abtransportieren als die jeweiligen Kontrollpflanzen (Abb. 32A).

Durch das Vorhandensein eines als Ventil funktionierenden *overflow*-Prozessanteiles können sowohl Stressfaktoren, die entweder zu Energiemangel oder -überschuss führen, als auch Verletzungen und Infektionen abgepuffert werden. Bedingungen eines "gemäßigten" Ener-

gieüberschusses könnten besser verkraftet werden, da der *overflow*-Anteil diesen ohne Veränderungen im Stoffwechselgeschehen abfangen und dissipieren würde. Zudem stünde die abfließende Energie bzw. Materie schnell für Reparatur-, Abwehr- und Schutzmechanismen zur Verfügung. Erst bei stärker und länger einwirkendem Stress würden weitere pflanzliche Stressreaktionen notwendig werden (s. u. a. LICHTENTHALER, 1996; BRUNOLD, 1996). Somit hätte der oben modellierte Mechanismus Bedeutung für die quantitative Regulation mittels *feedforward*- sowie *feedback*-Kontrolle. Er erlaubt den Pflanzen eine rasche Anpassung an schnell wechselnde Umwelt-Bedingungen ohne große Änderungen im Gesamtmetabolismus und garantiert dadurch eine hohe Flexibilität und Toleranz.

Nicht nur innerhalb der einzelnen metabolischen Prozesse besteht die Möglichkeit zur Kompensation von Stresseinflüssen. Es können auch ganze Prozesse oder Stoffwechselkomplexe unter Stressbedingungen eine Ventilfunktion übernehmen und Energie bzw. Materie auf jeder Hierarchieebene abfließen lassen. Das **Zu- oder Abschalten** bzw. die **Verstärkung oder Abschwächung solcher Ventilprozesse** kann somit den pflanzlichen Organismus vor Schädigungen oder Entkräftung schützen und stellt eine Regulation nicht nur auf quantitativer, sondern auch auf qualitativer Stufe dar. Als derartige Prozesse gelten beispielsweise die thermische Energiedissipation (KRAUSE, 1988; DEMMIG-ADAMS und ADAMS, 1992; GILMORE und BJÖRKMAN, 1994 und 1995; LICHTENTHALER, 1996), die u. a. mit der nicht-photochemischen Löschung der Chl-Fluoreszenz (FETENE *et al.*, 1997) und dem Violaxanthin-Zyklus (DEMMIG-ADAMS und ADAMS, 1992 und 1993) verbunden ist, sowie die Mehler-Ascorbat-peroxidase-Reaktion (FOYER *et al.*, 1994; OSMOND und GRACE, 1995; POLLE, 1996). Diesen Vorgängen wird infolge der Dissipation von exzessiver Energie auf der Hierarchieebene der photosynthetischen Primärprozesse eine den Photosynthese-Apparates schützende Funktion vor allem unter Starklichtbedingungen zugeschrieben.

Auch die cyanidresistente Atmung, ein alternativer Oxidaseweg, der in den Mitochondrien stattfindet, kann durch das Zu- und Abschalten einer Über- bzw. Unterreduktion entgegenwirken. Sie spielt v. a. in heterotrophem Gewebe, wie z. B. in Wurzeln, eine entscheidende Rolle (LAMBERS, 1982; HOFFMANN, 1985; LÖFFLER, 1986; SIEDOW, 1990; LAMBERS und ATKIN, 1995). Dieser Überlaufmechanismus ("Energie-*overflow*"; LAMBERS, 1982) tritt in Funktion, wenn bei einem sehr hohen Substratangebot der Cytochrom-Weg der Atmung gesättigt und das mitochondriale Ubichinon übermäßig reduziert ist. Dann führt dieser alternative Weg zum

Verbrauch von Kohlenhydraten, ohne dass dabei Energie durch Protonentransport konserviert wird (LAMBERS, 1982; LAWLOR, 1990; LAMBERS und ATKIN, 1995; HELDT, 1996). Außerdem kann in den Mitochondrien eine alternative NADH-Dehydrogenase als ein Überlaufmechanismus funktionieren, der ebenso zu einer Oxidation von überschüssigen Reduktionsequivalenten ohne ATP-Bildung führt. Die freiwerdende Energie wird dabei als Wärme dissipiert (SIEDOW, 1990; HELDT, 1996).

Eine wichtige protektive Rolle im pflanzlichen Organismus auf den “mittleren” Hierarchieebenen spielen die Photorespiration und das Malatventil. Am Beispiel dieser Vorgänge zeigt sich jedoch, dass die hier aufgeführten Kompensationsmechanismen (*overflow*-Anteil eines Prozesses sowie Ventilprozesse) in einem fließenden, aufeinander aufbauenden, nicht trennbaren Zusammenhang stehen.

Die Photorespiration (Kap. 3.4.3 und S. 103) kann unter Bedingungen, bei denen die Kapazität der photosynthetischen Primärprozesse die des Calvin-Zyklus weit übersteigt und die zu einem Anstau von ATP und NADPH^+H^+ führen, wie z. B. Starklicht (WU *et al.*, 1991; HEBER *et al.*, 1996; KOZAKI und TAKEBA, 1996) sowie Wasserstress, geschlossene Stomata und verminderte CO_2 -Konzentration (HEBER *et al.*, 1990; OSMOND und GRACE, 1995; HELDT, 1996) durch eine erhöhte Rate effektiv zur Dissipation von überschüssiger Energie und Reduktionsequivalenten beitragen und damit eine Schädigung der ETK verhindern. Allerdings ist ein Abschalten des gesamten Photorespirationsmechanismus auch unter extremen Mangelbedingungen, d. h. bei einer infolge einer Limitierung der Lichtreaktion eingeschränkten Dunkelreaktion der Photosynthese, mit dem Ziel einer Einsparung von Energie und C-Gerüsten und einer Optimierung in Richtung Wachstum, wie das bei einem reinen Ventilprozess der Fall wäre, nicht möglich. Dieses beweisen die in vorliegender Arbeit ermittelten Werte für den Anteil der Photorespiration ($\%R_{\text{ph}}$; Tab. 9), die für die Tabak-Varianten kaum Unterschiede aufwiesen. In allen untersuchten Blättern war die CO_2 -Aufnahmerate unter Anzuchtlicht um 27 bis 32 % durch die photorespiratorische Aktivität vermindert (s. auch S. 103). Das erklärt sich zum einen aus der Tatsache, dass die Oxygenase-Reaktion der RubisC/O eine zunächst unvermeidliche Nebenreaktion aufgrund des steigenden O_2/CO_2 -Verhältnisses der Atmosphäre im Laufe der Evolution ist (LAWLOR, 1990; HELDT, 1996). Zum anderen scheint die Photorespiration nicht nur einen darin begründeten Verlust von Energie und C-Gerüsten darzustellen, sondern dient laut LEA und BLACKWELL (1993) der Refixierung von mineralischem Stickstoff und ist der

Hauptsyntheseweg von Serin und Glycin im pflanzlichen Metabolismus. Die Notwendigkeit der Photorespiration ergab sich u. a. aus dem Befund von LEA und BLACKWELL (1993), dass Mutanten, die aufgrund des Fehlens eines der im Photorespirationszyklus wirkenden Enzyme nicht zur Photorespiration befähigt waren, unter ambienten Bedingungen eine rapide Abnahme der CO₂-Assimilationsrate aufwiesen.

Das Malatventil (NADP⁺-abhängige MDH, *Malat-shuttle*; Kap. 3.5.3 und S. 120 ff.) funktioniert als ein Ventil für exzessive Reduktionsequivalente unter Bedingungen, die zu einem Überschuss an Produkten der Lichtreaktionen der Photosynthese führen und kann so das für ein optimale Photosynthese notwendige Verhältnis zwischen NADPH⁺H⁺-Bereitstellung und -verbrauch aufrechterhalten (SCHEIBE, 1987 und 1990; BIEHLER *et al.*, 1996; GRACE und LOGAN, 1996; HELDT, 1996; VAISHLYA *et al.*, 1998). Unter Stress-Situationen, die zu einer verminderten Bereitstellung von Energie- und Reduktionsequivalenten führen, wie z. B. in den Blättern der in vorliegender Arbeit untersuchten Schwachlicht- und transgenen Tabakpflanzen, kann dagegen der Verbrauch von Reduktionsequivalenten durch *down*-Regulation z. B. der Aktivität der NADP⁺-MDH gesenkt werden. Die in Kap. 3.5.3 dargestellten und in Kap. 4.2 ausführlich diskutierten Daten zum Aktivierungszustand der NADP⁺-abhängigen MDH belegen dies. Desweiteren spielt das Malatventil unter nichtexzessiven Bedingungen *in vivo* für den Export von Reduktionsequivalenten aus dem Chloroplasten zur Versorgung des Zytoplasmas, z. B. für photorespiratorische Prozesse, eine Rolle (SCHEIBE, 1987 und 1990; SCHEIBE und STITT, 1988; IVANITSEV und KURGANOV, 1993; PREISS *et al.*, 1994; HELDT, 1996). Dieser Funktion entsprechend lag die *in vivo*-Aktivität der NADP⁺-MDH in Relation zur Vollaktivität in den am stärksten gestressten Tabakblättern der #42-LL noch bei 9 % und, vergleichend dazu, in den ungestressten Kontrollpflanzen der SNN-HL bei 15 % (Tab. 13).

Somit scheinen Photorespiration und *Malat-shuttle* hauptsächlich als Ventile zu agieren, da sie wesentlich zum Verbrauch von überschüssigen Energie- und Reduktionsequivalenten beitragen können. Es zeigte sich jedoch, dass diese Prozesse letztendlich zu einem gewissen Ausmaß im normalen Stoffwechselgeschehen unter natürlichen Bedingungen mitwirken und somit essentiell für den pflanzlichen Metabolismus sind. Eine Reduzierung solcher Prozesse zur Verhinderung von starken Verlusten unter Mangelbedingungen ist daher meist nur bis zu einem gewissen Grad zu beobachten, da ein bestimmter Anteil für die Lebenserhaltung notwendig ist. In Bestätigung dessen wurden in den Blättern der extrem durch Licht- und/oder

Chl-Mangel gestressten Tabakpflanzen zwar im Vergleich zur Kontrolle verminderte Photorespirationsraten und Aktivitäten der NADP⁺-MDH gefunden (Abb. 25 und 31), jedoch in einem vergleichend zu den verminderten ETR und CO₂-Aufnahmeraten geringeren Ausmaß (Tab. 17). Erst bei sehr extremen Stresssituationen kommt es zu einer drastischen Einschränkung dieser Prozesse, was aber mit einer starken Retardierung vieler anderer für die Pflanze lebensnotwendiger Prozesse und damit meist mit einem Verlust der Kompensationsfähigkeit einhergeht. Das belegt, dass diese Prozesse eine regulative Funktion nach dem in Abb. 37 dargestellten *overflow*-Modell besitzen. Allerdings wäre hier das Verhältnis von *overflow*- zu Erhaltungsanteil zu Ungunsten des letzteren verschoben, so dass der gesamte Prozess als Überlaufmechanismus erscheinen kann.

Da mit steigender Hierarchieebene eine größere Anzahl von Prozessen parallel zueinander ablaufen, miteinander verbunden und voneinander abhängig sind und die Komplexität in Zeit und Komponenten zunimmt (s. S. 87 ff.), ergibt sich dadurch auch eine steigende Regulationskapazität bei einem erhöhten Kompensationsbedarf. Auf den hierarchisch höheren, komplexeren Ebenen ist somit dem gesamten Sekundärstoffwechsel, der Produkte und Energie aus dem Primärstoffwechsel benötigt, eine Ventilfunktion zuzuschreiben. Je nach dem Zustand des pflanzlichen Metabolismus kommt es entweder zur Erhöhung bzw. zum Einschalten von Prozessen (bei Energieüberschuss im System) oder zur Erniedrigung bzw. zum Abschalten von Prozessen (bei Energiemangel im System). So ist beispielsweise unter Schwachlicht die Synthese von Festigungsgewebe reduziert (Kap. 3.2.1.1 und S. 109 f., ESCHRICH, 1995). Als weiteres Beispiel dient der Befund, dass unter starkem Trockenstress der Gehalt an Mono- und Sesquiterpenen in Blättern von *Cupressus sempervirens* durch Metabolisierung der gespeicherten Terpenoide um 95 % reduziert sowie deren Emission vollständig eingestellt wird (YANI *et al.*, 1993). Ebenso wurde eine starke Reduktion der Emission von Monoterpenen bei *Quercus ilex* (BERTIN und STAUDT, 1996) und von Isopren bei *Pueraria lobata* (SHARKEY und LORETO, 1993) sowie von Mono- und Sesquiterpenen bei *Citrus sinensis* (HANSEN und SEUFERT, 1999) unter strenger Dürre beobachtet. Die Tatsache, dass diese Reduzierung der Terpenoidemission erst bei sehr starkem Trockenstress - nach der Metabolisierung von eventuell gespeicherten Terpenoiden und aufgrund der stressbedingten Hemmung der Neusynthese - eintritt (BERTIN und STAUDT, 1996; HANSEN und SEUFERT, 1999), stimmt nicht verwunderlich, wenn man bedenkt, dass entsprechend den hier diskutierten Kompensationsmöglichkeiten die in Zeit und Komponenten komplexeren, z. T. zu qualitativen Veränderungen im Metabolismus führenden Kompensationsmechanismen erst in Kraft treten, wenn die für die Pflanze leicht zu realisierenden, meist nur quantitative Veränderungen umfassenden

Mechanismen (wie z. B. Kompensation über den *overflow*-Prozessanteil) ausgeschöpft sind.

Parallel zu den aufgeführten Regulationsmechanismen kann als zusätzlicher Adaptationsmechanismus, v. a. bei langzeitigen Stresseinflüssen, die **Zeitspanne** für den Ablauf der metabolischen Prozesse “vom Lichteinfang zum Wachstum” **verlängert** werden. Dadurch können stark gestresste Pflanzen trotz ausgeschöpfter Kompensationskapazitäten am Ende ihrer Entwicklung den Kontrollpflanzen adäquate Produktivitäten und Erträge aufweisen. So ist bei durch Chlorophyll- bzw. Lichtmangel gestressten Pflanzen die Wachstumsdauer länger (Tab. 3, 4 und 15). Daher erklärt sich auch, warum zwischen den Wachstumsraten und der maximal gebildeten Blattfläche jeweils des *source*-Blattes bzw. der gesamten Pflanze noch eine zusätzliche Annäherung der Werte der Chlorophyll- und/oder Lichtmangel-Pflanzen an die der SNN-HL stattfindet (Tab. 17). Generell zeigte sich, dass die Entwicklung und das Wachstum von Pflanzen unter Schwachlichtbedingungen im Gegensatz zu Pflanzen, die unter normalem bzw. starkem Licht angezogen wurden, retardiert sind (LICHTENTHALER *et al.*, 1981; SEBAA *et al.*, 1987). Ebenso ist die Entwicklung von Chloroplasten in chlorophylldefizienten Pflanzen langsamer als in den Wildtyppflanzen (ŠIFFEL *et al.*, 1993).

Die hier diskutierten Kompensationsmechanismen lassen sich in dem in Abb. 38 dargestellten Schema zusammenfassen. Es zeigt sich, dass ein Stressfaktor je nach seinem Wirkungsort im pflanzlichen Metabolismus sowohl Energieüberschuss als auch -mangel bewirkt und damit *feedback*- und *feedforward*-Regulationen auslöst, die jedoch, wenn auch in entgegengesetzter Auslenkung, auf den gleichen Mechanismen beruhen. Da diese v. a. über den Energiehaushalt der Zelle realisiert werden, kommt der Stabilisierung des Gleichgewichtes im AdN- und PN-System eine zentrale Bedeutung zu (s. Kap. 4.2). Einem ausgewogenen Verhältnis der Energie- und Reduktionsequivalente unter verschiedenartigen Bedingungen wurde ebenso in den Literaturübersichten von SHARKEY (1985), RAYMOND *et al.* (1987) sowie FOYER (1990) eine große Bedeutsamkeit beigemessen. So äußert sich eine Beeinträchtigung einer der Sequenzen der photosynthetischen Dunkelreaktion, die aufgrund der limitierten Nutzung von bereitgestellter Energie zu einem Energieüberschuss in den vorangegangenen Prozessen führt, primär in einer Akkumulation von ATP (SIEDLECKA *et al.*, 1997).

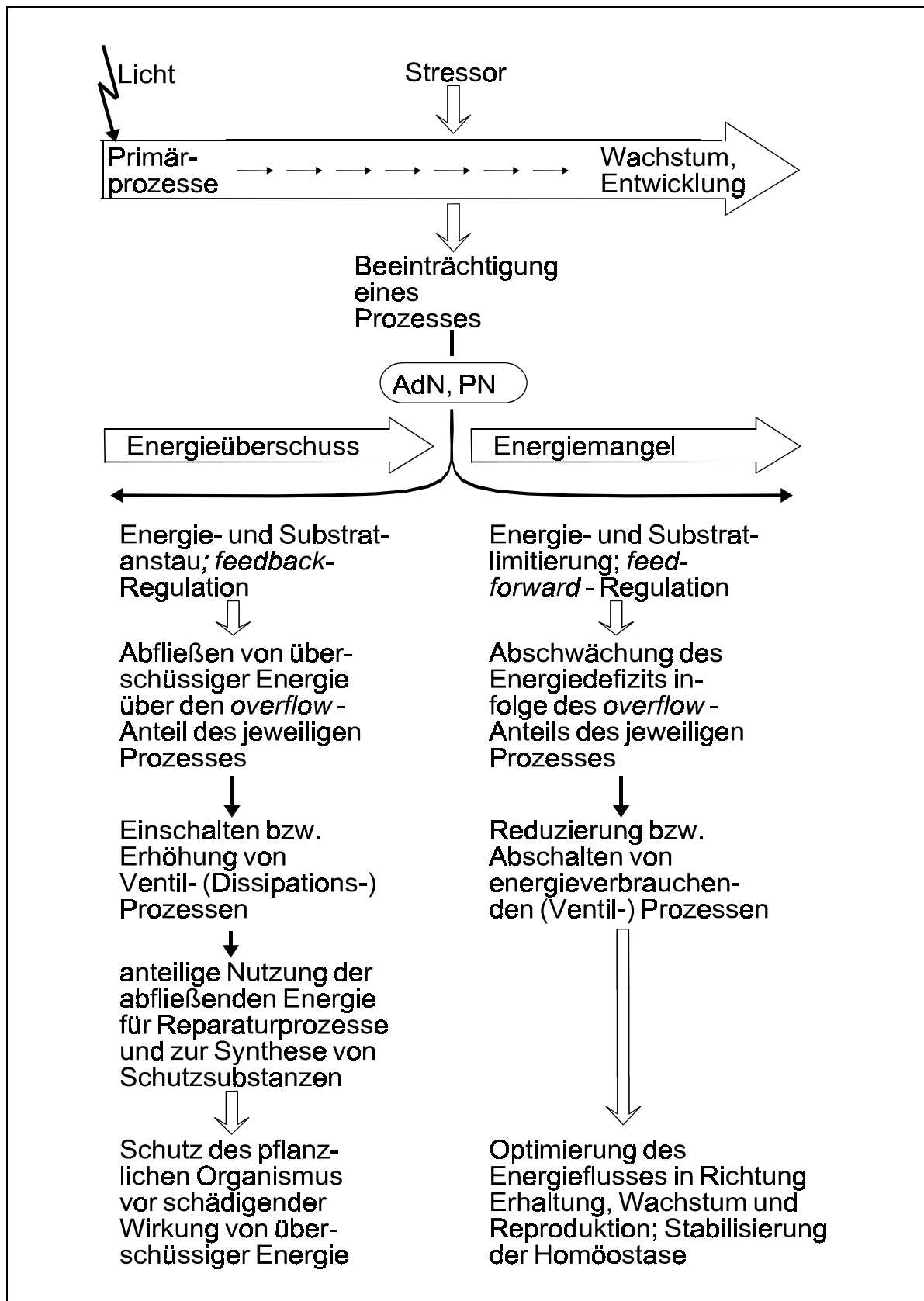


Abb. 38 Schema zur Auswirkung eines Stressors sowie Kompensationsmechanismen im pflanzlichen Metabolismus

Die durch eine Reduzierung von endogenen (Ventil-) Prozessen bedingte Einsparung von Energie als Folge der Energielimitierung und nachfolgender *feedforward*-Regulation spiegelt sich in den leicht erhöhten Werten des zellulären EC und RC (Kap. 4.2) der Chlorophyll- und Lichtmangelvarianten im Vergleich zu den Kontrollpflanzen von *Nicotiana tabacum* wider. Letztendlich ergab sich daraus für den Metabolismus der gestressten Tabakpflanzen sogar noch eine Reserve für exergone Vorgänge. Die Optimierung von Prozessen, die dem Wachstum und dem Regenerationsvermögen der Pflanze dienen, und der hauptsächlich in diese Richtung gelenkte Fluss der Energie aus der Lichtreaktion der Photosynthese werden durch die steigenden reellen Quantenausbeuten (Tab. 8) mit sinkendem Chlorophyllgehalt und unter LL-Bedingungen belegt. Somit wurde in den am stärksten gestressten Pflanzen das absorbierte Licht effektiver für die CO₂-Assimilation genutzt. Der reelle Quantenbedarf der CO₂-Fixierung (d. h. der reziproke Wert der reellen Quantenausbeute; o. Abb.) wird von KRAUSE (1988) mit mindestens 9.4 mol Photonen pro assimiliertes mol CO₂ angegeben, die restlichen absorbierten Photonen dienen der Energieversorgung anderer Prozesse bzw. werden als überschüssig dissipiert. Das bedeutet, dass in den unter LL angezogenen chl-ärmsten Tabakpflanzen (#42-LL), die einen reellen Quantenbedarf von 9.5 aufwiesen (zum Vergleich: SNN-HL = 23.8, #42-HL = 13.9, SNN-LL = 18.2) der Bedarf an Quanten für die CO₂-Assimilation aufgrund der vielfältigen Kompensationsprozesse gerade so gedeckt war. Anhand des in Abb. 38 dargestellten Regulationsschemas erklärt sich auch die Tatsache, dass unter verschiedenen Bedingungen sogar das Wachstum die Photosynthese steuert (KÖRNER, 1997). Auch Veränderungen auf anatomischer und morphologischer Ebene wie Stomata-, Zell- und Chloroplastenanzahl etc. (Kap. 3.2.2), die unter Langzeiteinwirkung von Stressoren beobachtet werden, erscheinen vor dem Hintergrund der aufgeführten Kompensationsmechanismen folgerichtig. Dafür, dass abfließende Energie für Reparaturprozesse und Synthesen von schützenden Substanzen genutzt werden kann, existieren in der Literatur genügend Beispiele. So kann z. B. bei Energieüberschuss durch Starklicht oder Nährstoffmangel eine gesteigerte Anthocyanbildung eine übermäßige Lichtabsorption verhindern (BOLHÁR-NORDENKAMPF und DRAXLER, 1993; ESCHRICH, 1995; HELDT, 1996). Weiterhin ist bekannt, dass bei Schädlingsbefall innerhalb von kürzester Zeit die Synthese von Abwehrstoffen ausgelöst wird.

Somit führt die Existenz von solchen anteiligen bzw. ganzen Ventilprozessen dazu, dass auf jeder Systemebene - auch unter "normalen" Bedingungen - Energie in Regulations-, Kompensations- und Sekundärreaktionen abgeleitet bzw. dissipiert wird. Infolge dessen steht für die Biomasseakkumulation bei C₃-Pflanzen weniger als 2 bis 4 % der auf die Blätter treffenden Gesamtstrahlung zur Verfügung (HOFFMANN, 1985 und 1987; LAWLOR, 1990).

Eines der charakteristischen Merkmale von lebenden Systemen bei der Reaktion auf die sie umgebenden Bedingungen ist, den Stoffwechsel ständig an die sich wechselnden Bedingungen zu adaptieren und damit letztendlich wieder auf ein *steady state*-Niveau zurückzuführen, d. h. die Erhaltung der Homöostase zu sichern. Bei Stressbedingungen, die bei Pflanzen einen verminderten Energiefluss verursachen, wie z. B. Licht- und Chlorophyll-Mangel, werden Kompensationsmechanismen wirksam, die die nachfolgenden Prozesse auf dem Weg von der Lichtenergie zum Wachstum optimieren (rechter Teil der Abb. 38). Diese Kompensationsmechanismen können erstens auf der Ebene innerhalb eines jeden Stoffwechselprozesses (*overflow*-Anteil), zweitens auf der Ebene von ganzen Prozessen oder Prozesskomplexen (Ventilprozesse) sowie drittens auf der Ebene des gesamten hierarchischen Systems (Verlängerung der Zeitspanne) in Aktion treten. Unter Überschuss von Energie führen selbige Systeme zu einer verstärkten Energiedissipation mit dem Ziel, Schädigungen des zellulären Systems zu minimieren oder gar zu verhindern (linker Teil der Abb. 38).

5 ZUSAMMENFASSUNG

- ① Die Anpassung der Pflanzen an ein verändertes Lichtabsorptionsvermögen, entweder infolge differierender Lichtbedingungen oder durch eine reduzierte Chlorophyllsynthese, beinhaltet komplexe, ausbalancierte Veränderungen, die in einer unterschiedlichen Ausprägung von Strukturen, Kompositionen und Funktionen auf allen Hierarchieebenen resultieren.

Tabakpflanzen, die unter Lichtmangelbedingungen angezogen wurden, bildeten in ihren Blattmesophyllzellen weniger Chloroplasten, jedoch mit einem relativ höheren Gehalt an Granathylakoiden, aus. Die Blätter solcher Pflanzen wiesen einen reduzierten blattflächenbezogenen Chlorophyllgehalt sowie eine geringere photosynthetische Aktivität auf, wie anhand von eigenen bzw. Literaturdaten für die ETR, CO₂-Aufnahmeraten, RubisC/O-Menge und -Aktivität belegt wurde. Ebenso waren die Raten der Dunkel- und der Photorespiration vermindert. Eine reduzierte Biomasseakkumulation, die durch verringerte Zucker- und Stärkegehalte, spezifische Frisch- und Trockenmassen bzw. Blattdicken dargestellt wurde, ging mit einem retardierten Wachstums- und Entwicklungsverhalten, veranschaulicht durch Pflanzenhöhe, Einzel- bzw. Gesamt-Blattfläche sowie Wachstums- und Entwicklungsdauer der Blätter und Pflanzen, einher.

Die Hemmung der Chlorophyllbiosynthese in Tabakpflanzen hatte einen verminderten Gehalt an Chlorophyll a und b zur Folge. Die Chloroplasten solcher Pflanzen beinhalteten in Anzahl und Struktur minder entwickelte Thylakoide. Die geringeren Aktivitäten photosynthetischer Prozesse, gezeigt z. B. durch niedrigere Elektronentransport-, CO₂-Aufnahme- und Photorespirationsraten sowie apparente Quantenausbeuten, waren ebenso offensichtlich wie die verringerte Rate der mitochondrialen Atmung. Im Bezug zu der verminderten Bildung und Akkumulation von Biomasse, dargestellt durch geringere Stärkegehalte und spezifische Frisch- und Trockenmassen, zeigten die Pflanzen mit extremem Chlorophyllmangel eine Einschränkung von Wachstumsprozessen (z. B. niedrigere Pflanzenhöhen, Blattflächen, Wachstumsraten und -dauer).

In Pflanzen, die durch Licht- und extremen Chlorophyllmangel gestresst waren, wurde somit über Energie- und Substratlimitierung sowie über *down*-Regulation eine generelle Einschränkung von Prozessen auf allen Hierarchieebenen auf dem Weg von der Lichtenergie zum Wachstum hervorgerufen.

- ② Die Ergebnisse zum Energie- und Reduktionsstatus unter *steady state*-Bedingungen der Photosynthese erlauben die Schlussfolgerung, dass die verminderten CO₂-Aufnahme-, Wachstums- und Entwicklungsraten in den Tabakpflanzen unter Licht- bzw. Chlorophyllmangel nicht nur aus einer ständigen unzureichenden Bereitstellung von ATP und NADPH⁺H⁺ aus den Lichtreaktionen in den Thylakoiden für die reduktiven Prozesse im Stroma resultierten. Es war eher der Fall, dass infolge der primär verminderten Rate des photosynthetischen Energieflusses und des damit verbundenen verminderten ATP- und NADPH⁺H⁺-Angebotes *via feedforward*-Kontrolle eine *down*-Regulation von Energie- und Reduktionsequivalente-verbrauchenden Prozessen erfolgte, wie z. B. der Malat-*shuttle* (NADP⁺-abhängige MDH), die Photorespiration und eine Vielzahl von Biosynthesen. In den stark durch Chlorophyll- und/oder Lichtmangel gestressten Pflanzen ergab sich infolge dieser *down*-Regulation sogar noch eine Reserve für die exergone Kapazität des Metabolismus. Die Erhaltung der energetischen Homöostase, d. h. das Ausbalancieren von ATP und NADPH⁺H⁺-Angebot und -Verbrauch ist das wesentliche Grundprinzip im pflanzlichen Stoffwechsels unter variierenden, z. T. extrem belastenden Bedingungen.
- ③ Grundlegende Überlebensstrategie der Pflanzen in Reaktion auf ihre Umwelt ist, den Stoffwechsel ständig an veränderte interne und externe Bedingungen anzupassen und damit langfristig auf ein *steady state*-Niveau einzuregulieren, so dass die Aufrechterhaltung der Homöostase gewährleistet bleibt. Unter Stresseinflüssen, die Energiemangel im pflanzlichen System hervorrufen, wie z. B. Licht- und Chlorophyll-Defizit, werden regulative und kompensatorische Mechanismen eingeschaltet, die der Optimierung der Prozesse in Richtung Wachstum, Entwicklung und Reproduktion unter den gegebenen Bedingungen dienen. Zu diesen Mechanismen zählen (1) der *overflow*-Anteil von Stoffwechselprozessen, der zur Abschwächung des Mangels an Energie- und Reduktionsequivalenten bzw. an Substraten führen kann, (2) Ventilprozesse, die reduziert bzw. abgeschaltet werden, um Wachstums- und Entwicklungsprozesse ausreichend mit Energie bzw. Substraten versorgen zu können sowie (3) die Verlängerung des zeitlichen Stoffwechsel-Ablaufes, um letztendlich ausreichend Biomasse zu bilden und zu akkumulieren. Damit findet die Kompensation von Stresseinflüssen auf verschiedenen strukturellen und zeitlichen Ebenen des hierarchischen Systems statt. Unter Energieüberschuss führen diese Systeme zu einer verstärkten Energiedissipation, um die schädigende Wirkung der exzessiven Energie auf pflanzliche Strukturen abzuschwächen oder gar zu verhindern.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- Adams WW III, Winter K, Schreiber U, Schramel P (1990) Photosynthesis and chlorophyll fluorescence characteristics in relationship to changes in pigment and element composition of leaves of *Platanus occidentalis* L. during autumnal leaf senescence. *Plant Physiol.* **93**, 1184 - 1190
- Adamson HY, Chow WS, Anderson JM, Vesik M, Sutherland MW (1991) Photosynthetic acclimation of *Tradescantia albiflora* to growth irradiance: morphological, ultrastructural and growth responses. *Physiol. Plant.* **82**, 353 - 359
- Adamson HY, Hiller RG, Vesik M (1980) Chloroplasts development and the synthesis of chlorophyll a and b and chlorophyll protein complexes I and II in the dark in *Tradescantia albiflora* (Kunth). *Planta* **150**, 269 - 274
- Akatsu M, Hosoi Y, Sasamoto H, Ashihara H (1996) Purine metabolism in cells of a mangrove plant, *Sonneratia alba*, in tissue culture. *J. Plant Physiol.* **149**, 133 - 137
- Albrecht G, Kammerer S, Praznik W, Wiedenroth EM (1993) Fructan content of wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) under hypoxia and following re-aeration. *New Phytol.* **123**, 471 - 476
- Amthor JS (1989) Respiration and crop productivity. Springer-Verlag, New York
- Andersen KB, von Meyenburg K (1977) Charges of nicotinamide adenine nucleotides and adenylate energy charge as regulatory parameters of the metabolism in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **252**, 4151 - 4156
- Anderson JM (1986) Photoregulation of the composition, function and structure of thylakoid membranes. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **37**, 93 - 136
- Anderson JM, Chow WS, Park Y-I (1995) The grand design of photosynthesis: Acclimation of the photosynthetic apparatus to environmental cues. *Photosynth. Res.* **46**, 129 - 139
- Andrews JR, Baker NR (1997) Oxygen-sensitive differences in the relationship between photosynthetic electron transport and CO₂ assimilation in C-3 and C-4 plants during state transitions. *Austral. J. Plant Physiol.* **24** (4), 495 - 503
- Andrews TJ, von Caemmerer S, Mate CJ, Hudson GS, Evans JR (1995) The regulation of Rubisco catalysis by Rubisco activase. In: Mathis P (ed.) *Photosynthesis: from light to biosphere*. Vol. V, 17 - 22
- Aoki M, Yabuki K (1977) Studies on the carbon dioxide enrichment for plant growth. VII. Changes in dry matter production and photosynthetic rate of cucumber during carbon dioxide enrichment. *Agr. Meteorol.* **18**, 475 - 485
- Apel P, Peisker M (1995) Inhibition of dark respiration by light in *Moricandia arvensis* (L.) DC. *J. Plant Physiol.* **147** (1), 15 - 18
- Atkin OK, Westbeek MHM, Cambridge ML, Lambers H, Pons TL (1997) Leaf respiration in light and darkness - a comparison of slow- and fast-growing poa species. *Plant Physiol.* **113** (3), 961 - 965
- Atkinson DE (1968) The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter. Interaction with feedback modifiers. *Biochem.* **7**, 4030 - 4034
- Atkinson DE (1977) Cellular energy metabolism and its regulation. Academic Press, New York
- Atkinson DE, Fall L (1967) Adenosine triphosphate conservation in biosynthetic regulation. *Escherichia coli* phosphoribosylpyrophosphate synthase. *J. Biol. Chem.* **242**, 3241 - 3242

- Averina NG, Walter G, Hoffmann P (1994) Energetic aspects of chlorophyll biosynthesis. *Photosynthetica* **30** (4), 503 - 517
- Bachmann MD, Robertson DS, Bowen CC, Anderson IC (1973) Chloroplast ultrastructure in pigment-deficient mutants of *Zea mays* under reduced light. *J. Ultrastruct. Res.* **45**, 384 - 406
- Ballantine JEM, Forde BJ (1970) The effect of light intensity and temperature on plant growth and chloroplast ultrastructure in soybean. *Amer. J. Bot.* **57** (10), 1150 - 1159
- Barber J, Baker NR (eds.) (1985) *Photosynthetic Mechanisms and the Environment*. Elsevier Science Publ., Amsterdam - New York - Oxford
- Bassi R, Dainese P, Marquardt J, Bergantino E (1993) Mechanisms of photoprotection dependent and independent from zeaxanthin in higher plant thylakoids. 5th Congress Europ. Soc. Photobiol., Marburg, Abstracts, 88
- Batini P, Ederli L, Pasqualini S, Antonielli M (1995) The redox state of two tobacco cultivar chloroplasts following treatment with ozone. In: Mathis P (ed.) *Photosynthesis: from light to biosphere*. Vol. IV, 409 - 412
- Beck EH (1996) Regulation of shoot/root ratio by cytokinins from roots in *Urtica dioica* - Opinion. *Plant & Soil* **185** (1), 3 - 12
- Bertin N, Staudt M (1996) Effect of water stress on monoterpene emission from young potted holm oak (*Quercus ilex* L.) trees. *Oecologia* **107** (4), 456 - 462
- Biehler K (1995) Nutzung und Entwertung von Lichtenergie durch den photosynthetischen Primärstoffwechsel in trockengestreßten *Triticum aestivum* und *Triticum kotschy*. Diss. A, Universität Kaiserslautern, FB Biologie, Kaiserslautern
- Biehler K, Migge A, Fock HP (1996) The role of malate dehydrogenase in dissipating excess energy under water stress in two wheat species. *Photosynthetica* **32** (3), 431 - 438
- Björkman O (1981) Responses to different quantum flux densities. In: Lange OL, Nobel PS, Osmond CB, Ziegler H (eds.) *Physiological Plant Ecology*. Vol. I, Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg - New York, 57 - 107
- Boardman NK (1977) Comparative photosynthesis of sun and shade plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **28**, 355 - 377
- Boehringer Mannheim (1995) UV-Test zur Bestimmung von nativer Stärke in Lebensmitteln und anderen Probenmaterialien. Arbeitsanleitung zur Test-Combination: Stärke (Best.-Nr. 207 748)
- Bolhàr-Nordenkamp HR, Draxler G (1993) Functional leaf anatomy. In: Hall DO, Scurlock JMO, Bolhàr-Nordenkamp HR, Leegood RC, Long SP (eds.) *Photosynthesis and Production in a Changing Environment. A field and laboratory manual*. Chapman & Hall, London, 91 - 112
- Bondada BR, Oosterhuis DM (1998a) Relationships between nitrogen content and net gas exchange components of a cotton leaf during ontogeny. *Photosynthetica* **35** (4), 631 - 635
- Bondada BR, Oosterhuis DM (1998b) Decline in photosynthesis as related to alterations in chloroplast ultrastructure of a cotton leaf during ontogeny. *Photosynthetica* **35** (3), 467 - 471
- Bonzon M, Hug M, Wagner E, Greppin H (1981) Adenine nucleotides and energy charge evolution during the induction of flowering in spinach leaves. *Planta* **152**, 189 - 914
- Bonzon M, Simon P, Greppin H, Wagner E (1983) Pyridine nucleotides and redox-charge evolution during the induction of flowering in spinach leaves. *Planta* **159**, 254 - 260

- Bradford MM (1976) A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical. Biochem.* **72**, 248 - 254
- Brix H, Sorrell BK (1996) Oxygen stress in wetland plants - comparison of de-oxygenated and reducing root environment. *Functional Ecology* **10** (4), 521 - 526
- Browse J (1997) Synthesis and storage of fatty acids. In: Larkins BA, Vasil IK (eds.) *Cellular and Molecular Biology of Plant Seed Development*. Kluwer Academic Press, Dordrecht, Netherlands, 407 - 440
- Brüggemann W, Wolter FP (1995) Decrease of energy-dependent quenching, but not major changes of photosynthesis parameters in *Arabidopsis thaliana* with genetically engineered phosphatidylglycerol composition. *Plant Science* **108**, 13 - 21
- Brunold C (1996) Einführung. In: Brunold C, Rügsegger A, Brändle R (eds.) *Stress bei Pflanzen. Ökologie, Physiologie, Biochemie, Molekularbiologie*. Verlag Paul Haupt, Bern - Stuttgart - Wien, 17 - 34
- Burkey KO (1993) Effect of growth irradiance on plastocyanin levels in barley. *Photosynth. Res.* **36**, 103 - 110
- Casey R (1990) Regulation of gene expression during development. In: Dennis DT, Turpin DH (eds.) *Plant Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Longman Scientific & Technical, London, 16 - 28
- Cave G, Tolley LC, Strain BR (1981) Effect of carbon dioxide enrichment on chlorophyll content, starch content and starch grain structure in *Trifolium subterraneum* leaves. *Physiol. Plant.* **51**, 171 - 174
- Champigny ML (1995) Integration of photosynthetic carbon and nitrogen metabolism in higher plants. *Photosynth. Res.* **46** (1 - 2), 117 - 127
- Chao CC, Lin TP (1996) Content of adenylate nucleotides and energy charge in the early stage of germination of orthodox and recalcitrant seeds. *Bot. Bulletin of Academia Sinica* **37** (4), 229 - 237
- Chapin FS III, Bloom AJ, Field CB, Waring RH (1987) Plant responses to multiple environmental factors. *Biol. Sci.* **37**, 49 - 57
- Cheeseman JM, Herendeen LB, Cheeseman AT, Clough BF (1997) Photosynthesis and photoprotection in mangroves under field conditions. *Plant Cell Environ.* **20** (5), 579 - 588
- Cornic G (1994) Drought stress and high light effects on leaf photosynthesis. *Photoinhibition of Photosynthesis*. BIOS Scientific Publishers Ltd, UK, 297 - 311
- Criddle RS, Anekonda TS, Sachs RM, Breidenbach RW, Hansen LD (1996) Selection for biomass production based on respiration parameters in eucalypts - acclimation of growth and respiration to changing growth temperature. *Canad. J. Forest Res.* **26** (9), 1569 - 1576
- Dale JE (1988) The control of leaf expansion. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **39**, 267 - 295
- Danon A, Mayfield SP (1994) Light-regulated translation of chloroplast messenger RNAs through redox potential. *Science* **266** (5191), 1717 - 1719
- Demmig-Adams B (1990) Carotenoids and photoprotection in plants: a role for the xanthophyll zeaxanthin. *Biochim. Biophys. Acta* **1020**, 1 - 24
- Demmig-Adams B, Adams WW (1992) Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **43**, 599 - 626

- Demmig-Adams B, Adams WW (1993) The xanthophyll cycle, protein turnover, and the high light tolerance of sun-acclimated leaves. *Plant Physiol.* **103**, 1413 - 1420
- Di Marco G, D'Ambrosio N, Giardi MT, Massacci A, Tricoli D (1989) Photosynthetic properties of leaves of a yellow green mutant of wheat compared to its wild type. *Photosynth. Res.* **21**, 117 - 122
- Di Marco G, Iannelli MA, Loreto F (1994) Relationship between photosynthesis and photorespiration in field-grown wheat leaves. *Photosynthetica* **30**, 45 - 51
- Dietz KJ, Heber U (1986) Light and CO₂ limitation of photosynthesis and states of the reactions regenerating ribulose 1,5-bisphosphate or reducing 3-phosphoglycerate. *Biochim. Biophys. Acta* **848**, 392 - 401
- Dörmann P, Hoffmann-Benning S, Balbo I, Benning C (1995) Isolation and characterization of an arabidopsis mutant deficient in the thylakoid lipid digalactosyl diacylglycerol. *Plant Cell* **7** (11), 1801 - 1810
- Dua A, Talwar G, Singal HR, Singh R (1994) CO₂ exchange, primary photochemical reactions and enzymes of photosynthetic carbon reduction cycle in *Brassica* pods during water stress and recovery. *Photosynthetica* **30** (2), 261 - 268
- Duarte P, Ferreira JG (1995) Seasonal adaptation and short-term metabolic responses of *Gelidium sesquipedale* to varying light and temperature. *Marine Ecology (progress series)* **121** (1 - 3), 289 - 300
- Eckardt NA, Snyder GW, Portis AR, Ogren WL (1997) Growth and photosynthesis under high and low irradiance of *Arabidopsis thaliana* antisense mutants with reduced ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activase content. *Plant Physiol.* **113** (2), 575 - 586
- Ehleringer JR, Björkman O (1977) Quantum yields for CO₂ uptake in C₃ and C₄ plants: Dependence on temperature, CO₂, and O₂ concentration. *Plant Physiol.* **59**, 86 - 90
- Eichelmann H, Laisk A (1994) CO₂ uptake and electron transport rates in wild-type and a starchless mutant of *Nicotiana sylvestris*. *Plant Physiol.* **106**, 679 - 687
- Elstner EF (1996) Die Sauerstoffaktivierung als Basis pflanzlicher Stressreaktionen. In: Brunold C, Rügsegger A, Brändle R (eds.) *Stress bei Pflanzen. Ökologie, Physiologie, Biochemie, Molekularbiologie*. Verlag Paul Haupt, Bern - Stuttgart - Wien, 347 - 362
- Endemann W (1954) Die Tabakpflanze. Die neue Brehm-Bücherei, A. Ziemsen Verlag, 48 S.
- Eschrich W (1995) Lichtwirkung. In: Eschrich W (ed.) *Funktionelle Pflanzenanatomie*, Kap. 4. Springer-Verlag, Heidelberg - New York - Berlin, 111 - 134
- Escobar-Gutiérrez AJ, Gaudillère J-P (1997) Carbon partitioning in source leaves of peach, a sorbitol-synthesizing species, is modified by photosynthetic rate. *Physiol. Plant.* **100** (2), 353 - 360
- Eskins K, Jiang CZ, Shibles R (1991) Light-quality and irradiance effects on pigments, light-harvesting proteins and Rubisco activity in a chlorophyll- and light-harvesting-deficient soybean mutant. *Physiol. Plant.* **83**, 47 - 53
- Evans LT (1975) Beyond photosynthesis - the role of respiration, translocation and growth potential in determining productivity. In: Cooper JP (ed.) *Photosynthesis and productivity in different environments*. Cambridge University Press, Cambridge, 501 - 507
- Everse J, Anderson B, You K-S (eds.) (1982) *The Pyridine Nucleotide Coenzymes*. Academic Press, Inc., New York

- Fader GM, Koller HR (1984) Relationships between Respiration Rate and Adenylate and Carbohydrate Pools of the Soybean Fruit. *Plant Physiol.* **75**, 694 - 699
- Falbel TG, Meehl JB, Staehelin LA (1996) Severity of mutant phenotype in a series of chlorophyll-deficient wheat mutants depends on light intensity and the severity of the block in chlorophyll synthesis. *Plant Physiol.* **112**, 821 - 832
- Falbel TG, Staehelin LA (1996) Partial blocks in the early steps of the chlorophyll synthesis pathway: A common feature of chlorophyll b-deficient mutants. *Physiol. Plant.* **97**, 311 - 320
- Falbel TG, Staehelin LA, Adams WW III (1994) Analysis of xanthophyll cycle carotenoids and chlorophyll fluorescence in light intensity-dependent chlorophyll-deficient mutants of wheat and barley. *Photosynth. Res.* **42**, 191 - 202
- Farquhar GD, Sharkey TD (1982) Stomatal conductance and photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **33**, 317 - 345
- Farquhar GD, von Caemmerer S, Berry JA (1980) A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ plants. *Planta* **149**, 78 - 90
- Farrar JF (1993) Carbon partitioning. In: Hall DO, Scurlock JMO, Bolh  r-Nordenkamp HR, Leegood RC, Long SP (eds.) *Photosynthesis and Production in a Changing Environment. A field and laboratory manual.* Chapman & Hall, London, 232 - 246
- Faske M, Backhausen JE, Sendker M, Singer-Bayrle M, Scheibe R, von Schaewen A (1997) Transgenic tobacco plants expressing pea chloroplast NMDH cDNA in sense and antisense orientation - effects on NADP-malate dehydrogenase level, stability of transformants, and plant growth. *Plant Physiol.* **115** (2), 705 - 715
- Fetene M, Nauke P, Luttge U, Beck E (1997) Photosynthesis and photoinhibition in al tropical alpine giant rosette plant. *Lobelia rhynchopetalum*. *New Phytologist* **137** (3), 453 - 461
- Fiedler B (1998) Auswirkung von Trockenstre  auf CO₂-/H₂O-Gaswechsel und Chlorophyllfluoreszenz bei *Quercus ilex* (L.). Studienjahresarbeit, HU, Math.-Nat. Fak. I, Berlin
- Fischer E (1999) Magnesiummangel an höheren Pflanzen: Aufnahme und Verlagerung von Nährstoffen, Gaswechsel und Assimilatbildung an Buschbohne und Spinat. Habil., HU, Landwirtsch.-G  rtn. Fak., Berlin
- Forseth IN, Norman JM (1993) Modelling of solar irradiance, leaf energy budget and canopy photosynthesis. In: Hall DO, Scurlock JMO, Bolh  r-Nordenkamp HR, Leegood RC, Long SP (eds.) *Photosynthesis and Production in a Changing Environment. A field and laboratory manual.* Chapman & Hall, London, 207 - 219
- Fosket DE (1994) *Plant Growth and Development: A Molecular Approach.* Academic Press, San Diego
- Fowden L, Stoddart J, Mansfield TA (eds.) (1993) *Plant adaptation to environmental stress.* Chapman & Hall, London
- Foyer C, Furbank R, Harbinson J, Horton P (1990) The mechanisms contributing to photosynthetic control of electron transport by carbon assimilation in leaves. *Photosynth. Res.* **25**, 83 - 100
- Foyer CH, Descourvieres P, Kunert KJ (1994) Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants. *Plant Cell Environ.* **17**, 507 - 523

- Foyer CH, Valadier MH, Ferrario S (1995) Co-regulation of nitrogen and carbon assimilation in leaves. In: Smirnoff N (ed.) Environment and Plant Metabolism. Flexibility and acclimation. BIOS Scientific publishers, 17 - 33
- Furbank RT, Pritchard J, Jenkins CLD (1997) Effects of exogenous sucrose feeding on photosynthesis in the C-3 plant tobacco and the C-4 plant *Flaveria bidentis*. Austr. J. Plant Physiol. **24** (3), 291 - 299
- Furukawa A (1997) Stomatal frequency of *Quercus myrsinaefolia* grown under different irradiances. Photosynthetica **34** (2), 195 - 199
- Gall A, Wild-Peters L, Schmadel-Hageböiling H, Wild A (1996) The effect of light intensities on the transcript level of proteins involved in photosynthesis in mustard plants. J. Plant Physiol. **149**, 79 - 85
- Gardeström P (1987) Adenylate ratios in the cytosol, chloroplasts and mitochondria of barley leaf protoplasts during photosynthesis at different carbon dioxide concentrations. FEBS Lett. **212**, 114 - 118
- Geiger DR, Servaites JC (1994) Diurnal regulation of photosynthetic carbon metabolism in C₃ plants. Annu. Rev. Plant Physiol. **45**, 235 - 256
- Gerst U, Schönknecht G, Heber U (1994) ATP and NADPH as the driving force of carbon reduction in leaves in relation to thylakoid energization by light. Planta **193**, 421 - 429
- Giersch CH, Heber U, Kobayashi Y, Inoue Y, Shibata K, Heldt HW (1980) Energy charge, phosphorylation potential and proton motive force in chloroplasts. Biochim. Biophys. Acta **590**, 59 - 73
- Gilmore AM, Björkman O (1994) Adenine nucleotides and the xanthophyll cycle in leaves. I. Effects of CO₂- and temperature-limited photosynthesis on adenylate energy charge and violaxanthin de-epoxidation. Planta **192** (4), 526 - 536
- Gilmore AM, Björkman O (1995) Temperature-sensitive coupling and uncoupling of ATPase-mediated, nonradiative energy dissipation - similarities between chloroplasts and leaves. Planta **197** (4), 646 - 654
- Gloser V, Gloser J (1996) Acclimation capability of *Calamagrostis epigejos* and *C. arundinacea* to changes in radiation environment. Photosynthetica **32** (2), 203 - 212
- Grace SC, Logan BA (1996) Acclimation of foliar antioxidant systems to growth irradiance in three broad-leaved evergreen species. Plant Physiol. **112**, 1631 - 1640
- Grahl H, Wild A (1972) Die Variabilität der Größe der Photosyntheseeinheit bei Licht- und Schattenpflanzen. Z. Pflanzenphysiol. **67**, 443 - 453
- Gries D, Giesbert C, Strobel J, Runge M (1998) Erhaltungs- und Wachstumsatmung von Stämmen, Ästen und Grobwurzeln der Buche und ihre Bedeutung für die C-Bilanz. Ökophysiologie pflanzlicher Interaktionen, 3. Jahrestagung des Arbeitskreises "Experimentelle Ökologie der Pflanzen" in der GfÖ, Tagungsband, 17
- Grimm B (1992) Biosynthese der Aminolävulinsäure in höheren Pflanzen und Cyanobakterien. Botanikertagung Berlin, Tagungsband, 287
- Grimm H, Recknagel R-D (1985) Grundkurs Biostatistik. Gustav Fischer Verlag, Jena
- Haag E, Renger G (1993) Chloroplasts. In: Milazzo G, Berg H, Lenaz G (eds.) Treatise in Bioelectrochemistry. Vol. 3: Bioenergetics. Birkhäuser Verlag, Basel, 95 - 134

- Habash DZ, Genty B, Baker NR (1994) The consequences of chlorophyll deficiency for photosynthetic light use efficiency in a single nuclear gene mutation of cowpea. *Photosynth. Res.* **42**, 17 - 25
- Hampp R (1985) ADP, AMP: luminometric method. In: Bergmeyer HU (ed.) *Methods of Enzymatic Analysis*. 3. Ausg., Bd. 7, Verlag Chemie, Weinheim, 371 - 379
- Hampp R, Goller H, Ziegler H (1982) Adenylate levels, energy charge and phosphorylation potential during dark-light and light-dark transition in chloroplasts, mitochondria, and cytosol of mesophyll protoplasts from *Avena sativa* L. *Plant Physiol.* **69**, 448 - 455
- Hansen LD, Breidenbach RW, Smith BN, Hansen JR, Criddle RS (1998) Misconceptions about the relation between plant growth and respiration. *Bot. Acta* **111** (4), 255 - 260
- Hansen LD, Hopkins MS, Criddle RS (1997) Plant calorimetry: A window to plant physiology and ecology. *Thermochim. Acta* **300**, 183 - 197
- Hansen LD, Taylor DK, Smith BN, Criddle RS (1996) The relation between plant growth and respiration: Applications to ecology and crop cultivar selection. *Russian J. Plant Physiol.* **43**, 691 - 697
- Hansen U, Seufert G (1999) Terpenoid emission from *Citrus sinensis* (L.) OSBECK under drought stress. *Physics and Chemistry of the Earth*, in press
- Hansen U-P, Moldaenke C, Tabrizi H, Ramm D (1993) The Effect of Transthylakoid Proton Uptake on Cytosolic pH and the Imbalance of ATP and NADPH/H⁺ Production as Measured by CO₂- and Light-Induced Depolarisation of the Plasmalemma. *Plant Cell Physiol.* **34** (5), 681 - 695
- Harbinson J, Genty B, Foyer CH (1990) Relationship between photosynthetic electron transport and stromal enzyme activity in pea leaves. *Plant Physiol.* **94**, 545 - 553
- Harrison EP, Willingham NM, Lloyd JC, Raines CA (1998) Reduced sedoheptulose-1,7-bisphosphatase levels in transgenic tobacco lead to decreased photosynthetic capacity and altered carbohydrate accumulation. *Planta* **204** (1), 27 - 36
- Harrison MA, Nemson JA, Melis A (1993) Assembly and composition of the chlorophyll a-b light harvesting complex of barley: immunochemical analysis of chlorophyll b-less and chlorophyll b-deficient mutants. *Photosynth. Res.* **38**, 141 - 151
- Härtel H, Grimm B (1998) Konsequenzen von chlorophyll Defizienz für die Blattcarotenoidzusammensetzung in tabacco: synthetisierende glutamat 1-semialdehyd aminotransferase antisense RNA: Abhängigkeit von Entwicklungsalter und Wachstumslicht. *J. Exp. Bot.* **49** (320), 535 - 546
- Härtel H, Kruse E, Grimm B (1997) Einschränkung der Chlorophyllsynthese durch Expression von glutamat-1-semialdehyd aminotransferase antisense RNA führt nicht zur Verringerung der Lichtfangantenne in tabacco. *Plant Physiol.* **113**, 1113 - 1124
- Havel L, Durzan DJ (1996) Apoptosis in Plants. *Bot. Acta* **109**, 268 - 277
- Hayati R, Egli DB, Crafts-Brandner SJ (1995) Carbon and nitrogen supply during seed filling and leaf senescence in soybean. *Crop Science* **35** (4), 1063 - 1069
- He ZL, von Caemmerer S, Hudson GS, Price GD, Badger MR, Andrews TJ (1997) Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activase deficiency delays senescence of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase but progressively impairs its catalysis during tobacco leaf development. *Plant Physiol.* **115** (4), 1569 - 1580

- Heber U (1973) Stoichiometry of reduction and phosphorylation during illumination of intact chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta* **305**, 140 - 152
- Heber U, Bligny R, Sreb P, Douce R (1996) Photorespiration is essential for the protection of the photosynthetic apparatus of C₃ plants against photoinactivation under sunlight. *Bot. Acta* **109**, 307 - 315
- Heber U, Neimanis S, Dietz KJ (1988) Fractional control of photosynthesis by the Q_b protein, the cytochrome f/b₆ complex and other components of the photosynthetic apparatus. *Planta* **173**, 267 - 274
- Heber U, Neimanis S, Dietz KJ, Viil J (1986) Assimilatory force as a driving force in photosynthesis. *Biochim. Biophys. Acta* **852**, 144 - 155
- Heber U, Neimanis S, Dietz KJ, Viil J (1987) Assimilatory force in relation to photosynthetic fluxes. In: Biggins J (ed.) *Progress in photosynthesis research*. Vol. III, Martinus Nijhoff Publ., Dordrecht, The Netherlands, 293 - 299
- Heber U, Santarius KA (1970) Direct and indirect transfer of ATP and ADP across the chloroplast envelope. *Z. Naturforsch.* **25B**, 718 - 728
- Heber U, Schreiber U, Siebke K, Dietz K-J (1990) Relationships between light-driven electron transport, carbon reduction and carbon oxidation in photosynthesis. In: Zelitch I (ed.) *Plant Biology*. Vol. 10: Perspectives in Biochemical and Genetic Regulation of Photosynthesis. Alan R. Liss, Inc., 17 - 37
- Heinze B, Praznik W (1991) Separation and purification of inulin oligomeres and polymeres by reversed-phase high performance liquid chromatography. *J. Applied Polymer Science* **48**, 207 - 225
- Heldt HW (1996) *Pflanzenbiochemie*. Spektrum Akademie Verlag, Heidelberg - Berlin - Oxford
- Herbers K, Meuwly P, Frommer WB, Metraux J-P, Sonnewald U (1996a) Systemic acquired resistance mediated by the ectopic expression of invertase: possible hexose sensing in the secretory pathway. *Plant Cell* **8**, 793 - 803
- Herbers K, Meuwly P, Metraux J-P, Sonnewald U (1996b) Salicylic acid-independent induction of pathogenesis-related protein transcripts by suars is dependent on leaf developmental stage. *FEBS Letters* **397**, 239 - 244
- Hesketh JD, Ogren WL, Hageman ME, Peters DB (1981) Correlations among leaf CO₂-exchange rates, areas and enzyme activities among soybean cultivars. *Photosynth. Res.* **2**, 21 - 30
- Hikosaka K, Terashima I (1995) A model of the acclimation of photosynthesis in the leaves of C₃ plants to sun and shade with respect to nitrogen use. *Plant Cell Environ.* **18**, 605 - 618
- Hippeli S, Elstner EF (1996) Mechanisms of oxygen activation during plant stress: Biochemical effects of air pollutants. *J. Plant Physiol.* **148**, 249 - 257
- Hoffmann P (1968) Zur Physiologie der Photosynthese bei höheren Pflanzen. In: Troll W, von Guttenberg H (eds.) *Bot Studien*. Heft 18, Gustav Fischer Verlag, Jena
- Hoffmann P (1982) Ökophysiologische Grundlagen der Stoffproduktion höherer Pflanzen. *Wiss. Zeitschr. d. Ernst-Moritz-Arndt-Uni. Greifswald, Math.-Nat. Reihe* **31** (4), 18 - 22
- Hoffmann P (1985) Ecophysiological aspects of biomass production in higher plants. *Photosynth. Res.* **7**, 3 - 17
- Hoffmann P (1987) *Photosynthese*. WTB, Bd. 158, Akademie-Verlag, Berlin

- Hoffmann P, Walter G, Wiedenroth E-M, Peine G (1993) How the cereals cope with oxygen deficiency. *Photosynthetica* **28** (4), 495 - 513
- Höfgen R, Axelsen KB, Kannangara CG, Schüttke I, Pohlenz HD, Willmitzer L, Grimm B, von Wettstein D (1994) A visible marker for antisense mRNA expression in plants: Inhibition of chlorophyll synthesis with a glutamate-1-semialdehyde aminotransferase antisense gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Plant Biol.* **91**, 1726 - 1730
- Höft M, Verpoorte R, Beck E (1996) Growth and alkaloid contents in leaves of *Tabernaemontana pachysiphon* Stapf. (Apocynaceae) as influenced by light intensity, water and nutrient supply. *Oecologia* **107** (2), 160 - 169
- Hopkins WG (1995) Carbon assimilation and productivity. In: Introduction to plant physiology. Chapter 13, John Wiley and Sons Inc., New York, 251 - 261
- Höxtermann E (1992) Fundamental discoveries in the history of photosynthesis research. *Photosynthetica* **26** (4), 485 - 502
- Huner NPA, Maxwell DP, Gray GR, Savitch LV, Krol M, Ivanov AG, Falk S (1996) Sensing environmental temperature change through imbalances between energy supply and energy consumption: Redox state of photosystem II. *Physiol Plant.* **98**, 358 - 364
- Iacono F, Bertamini M, Scienza A, Coombe BG (1995) Differential effects of canopy manipulation and shading of *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon, Cabernet - leaf gas exchange, photosynthetic electron transport rate and sugar accumulation in berries. *Vitis* **34** (4), 201 - 206
- Ivanitzew WW, Kurganov BI (1993) [Isolation and kinetic properties of NAD-dependent malate dehydrogenase from cotton leaf chloroplasts] (in russ.). *Biochimija* **58** (4), 606 - 612
- Jenkins CLD, Edwards GE, Andrews J (1989) Reduction in chlorophyll content without a corresponding reduction in photosynthesis and carbon assimilation enzymes in yellow-green *oil yellow* mutants of maize. *Photosynth. Res.* **20**, 191 - 205
- Jensen RG, Bahr JT (1977) Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **28**, 379 - 400
- Jiang CZ, Rodermel SR (1995) Regulation of photosynthesis during leaf development in *rbcS* antisense DNA mutants of tobacco. *Plant Physiol.* **107** (1), 215 - 224
- Jiang CZ, Rodermel SR, Shibles RM (1997) Regulation of photosynthesis in developing leaves of soybean chlorophyll-deficient mutants. *Photosynth. Res.* **51** (3), 185 - 192
- Kacser H (1987) Control of metabolism. In: Davies DD (ed.) *The Biochemistry of Plants: A Comprehensive Treatise*. Vol. 11, Academic Press, San Diego, 39 - 67
- Kazda M, Schmid I, Klumpp K (1998) Anpassung der photosynthetischen Leistungsfähigkeit von Laubbäumen an das potentielle Lichtangebot. *Ökophysiologie pflanzlicher Interaktionen*, 3. Jahrestagung des Arbeitskreises "Experimentelle Ökologie der Pflanzen" in der GfÖ, Tagungsbd., 32
- Kessey J (1987) *Biochemica information. A revised biochemical reference source*. Boehringer Mannheim Biochemicals, Indianapolis, 1. Aufl.
- Keys AJ (1986) Rubisco, its role in photorespiration. *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B.* **313**, 325 - 336
- Kitzmann C (1996) Regulatorische Wechselwirkung zwischen Pyridinnukleotid- und Adenylat-Pool in intakten isolierten Spinachchloroplasten. Diss A, HU, Math.-Nat. Fak. I, Berlin

- Kleber H-P, Schlee D (1991) Biochemie I. Allgemeine und funktionelle Biochemie. UTB, Biowissenschaften, Gustav Fischer Verlag, Jena
- Klingenberg M (1985) End-point UV-methods: Determination of NADH and NADPH⁺H⁺. In: Bergmeyer HU (ed.) Methods of Enzymatic Analysis. 3. Ausg., Bd. 7, Verlag Chemie, Weinheim, 261 - 267
- Kluge M (1977) Regulation of Carbon dioxide fixation in plants. In: Integration of activity in the higher plants. Symp. Soc. Exp. Bot., No. 31, Cambridge Univ. Press, Cambridge, 155 - 175
- Klumpp K, Schmid I, Kazda M (1998) Photosyntheseleistung von *Fagus sylvatica* L. unter Fichte in Abhängigkeit vom Nährstoff- und Lichtangebot. Ökophysiologie pflanzlicher Interaktionen, 3. Jahrestagung des Arbeitskreises "Experimentelle Ökologie der Pflanzen" in der GfÖ, Tagungsbd., 33
- Knoetzel J, Simpson D (1991) Expression and organisation of antenna proteins in the light- and temperature-sensitive barley mutant *chlorina*⁻¹⁰⁴. *Planta* **185**, 111 - 123
- Kobayashi Y, Köster S, Heber U (1982) Light scattering, chlorophyll fluorescence and state of the adenylate system in illuminated spinach leaves. *Biochim. Biophys. Acta* **682**, 44 - 54
- Koch KE (1996) Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **47**, 509 - 540
- Körner C (1997) Wachstum steuert die Photosynthese (meist) und nicht umgekehrt - warum? Stoffverlagerung in Pflanzen und von Pflanzen zum Ökosystem, 2. Jahrestagung des Arbeitskreises "Experimentelle Ökologie der Pflanzen" in der GfÖ, Tagungsband, 10 - 11
- Kovtun Y, Daie J (1995) End-product control of carbon metabolism in culture-grown sugar beet plants - molecular and physiological evidence on accelerated leaf development and enhanced gene expression. *Plant Physiol.* **108** (4), 1647 - 1656
- Kozaki A, Takeba G (1996) Photorespiration protects C3 plants from photooxidation. *Nature* **384** (6609), 557 - 560
- Krapp A, Chaves MM, David MM, Rodriques ML, Pereira JS, Stitt M (1994) Decreased ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in transgenic tobacco transformed with 'antisense' *rbcS*. VIII. Impact on photosynthesis and growth in tobacco growing under extreme high irradiance and high temperature. *Plant Cell Environ.* **17**, 945 - 953
- Krapp A, Hofmann B, Schaefer C, Stitt M (1993) Regulation of the expression of *rbcS* and other photosynthetic genes by carbohydrates: a mechanism for "sink regulation" of photosynthesis. *Plant J.* **3**, 817 - 828
- Krause C (1975) Adenylatmengen und Photophosphorylierungsaktivitäten in pflanzlichen Zellen und Geweben - eine Literaturübersicht unter Berücksichtigung methodischer Aspekte. *Photosynthetica* **9** (4), 412 - 453
- Krause GH (1988) Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiol. Plant.* **74**, 566 - 574
- Krause GH, Heber U (1976) Energetics of intact chloroplasts. In: Barber J (ed.) Topics in photosynthesis. Vol. 1: The intact chloroplast, Amsterdam, 171 - 214
- Krendeleva TE, Kukarskikh GP, Nizovskaya NV, Rubin AB (1996) Functional organization of thylakoid membranes in viable pea mutants with low chlorophyll content. *Physiol. Plant.* **96** (3), 439 - 445

- Krömer S (1995) Respiration during photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **46**, 45 - 70
- Kühl H (1990) Produktivität und Vitalität von Röhrichtbeständen (*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel) verschiedener Seen in der Uckermark und in Ostbrandenburg. Diss A, HU, Math.-Nat. Fak., Berlin
- Kühl H, Kohl J-G (1992) Nitrogen accumulation, productivity and stability of reed stands (*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel) at different lakes and sites of the lake districts of Uckermark and Mark Brandenburg (Germany). *Int. Revue ges. Hydrobiol.* **77** (1), 85 - 107
- Kühl H, Kohl J-G (1993) Seasonal nitrogen dynamics in reed beds (*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex. Steudel) in relation to productivity. *Hydrobiologia* **251**, 1 - 12
- Kumazawa S, Skjoldal HR, Mitsui A (1987) Dark hydrogen evolution and adenine nucleotides of subtropical marine unicellular green algae during anaerobic incubation. *Plant Cell Physiol.* **28** (4), 653 - 661
- Küppers M, Koch G, Mooney HA (1988) Concentrating effects of growth to changes in dry matter allocation in response to variation in photosynthetic characteristics induced by photoperiod, light, and nitrogen. *Aust. J. Plant Physiol.* **15**, 287 - 298
- Kusian B, Bowien B (1997) Organization and regulation of cbb CO₂ assimilation genes in autotrophic bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* **21** (2), 135 - 155
- Kutik J (1998) The development of chloroplast structure during leaf ontogeny. *Photosynthetica* **35** (4), 481 - 505
- Laing WA, Ogren WL, Hageman RH (1974) Regulation of Soybean Net Photosynthetic CO₂ Fixation by the Interaction of CO₂, O₂, and Ribulose-1,5-Diphosphate-Carboxylase. *Plant Physiol.* **54**, 678 - 685
- Lambers H (1982) Cyanide-resistant respiration: A non-phosphorylating electron transport pathway acting as an energy *overflow*. *Physiol. Plant.* **55**, 478 - 485
- Lambers H (1987) Growth, respiration, exudation and symbiotic associations: the fate of carbon translocated to the roots. In: Gregory PJ, Lake JV, Rose DA (eds.): *Root Development and Function*, Cambridge University Press, Cambridge, 125 - 146
- Lambers H, Atkin O (1995) Regulation of carbon metabolism in roots. In: Madore MA, Lucas WJ (eds.) *Carbon partitioning and source-sink interactions in plants*, 226 - 237
- Landsberg JJ (1977) Some useful equations for biological studies. *Expl. Agric.* **13**, 273 - 286
- Lara C, de Cires A, Boza M, de la Torre A (1995) Carbon control of photosynthetic nitrate assimilation. In: Mathis P (ed.) *Photosynthesis: from light to biosphere*. Vol. V, 341 - 346
- Larcher W (1987) Stress bei Pflanzen. *Naturwissenschaften* **74**, 158 - 167
- Larcher W (1994) *Ökophysiologie der Pflanzen: Leben, Leistung und Streßbewältigung der Pflanzen in ihrer Umwelt*. UTB, Ulmer-Verlag, Stuttgart
- Lawlor DW (1990) *Photosynthese: Stoffwechsel - Kontrolle - Physiologie*. Thieme Verlag, Stuttgart - New York
- Lawlor DW (1995) Photosynthesis, productivity and environment. *J. Exp. Bot.* **46** (Special Issue), 1449 - 1461

- Lawlor DW, Keys AJ (1993) Understanding photosynthetic adaptation to changing climate. In: Fowden L, Stoddart J, Mansfield TA (eds.) Plant adaptation to environmental stress. Chapman & Hall, London, 85 - 106
- Lea PJ, Blackwell RD (1993) Ammonia assimilation, photorespiration and amino acid biosynthesis. In: Hall DO, Scurlock JMO, Bolh r-Nordenkamp HR, Leegood RC, Long SP (eds.) Photosynthesis and Production in a Changing Environment. A field and laboratory manual. Chapman & Hall, London, 313 - 336
- Lee JS, Daie J (1997) End-product repression of genes involving carbon metabolism in photosynthetically active leaves of sugarbeet. Plant Cell Physiol. **38** (8), 887 - 894
- Leegood RC (1993) Carbon metabolism. In: Hall DO, Scurlock JMO, Bolh r-Nordenkamp HR, Leegood RC, Long SP (eds.) Photosynthesis and Production in a Changing Environment. A field and laboratory manual. Chapman & Hall, London, 247 - 267
- Leong T-Y, Anderson JM (1984) Adaptation of the thylakoid membranes of pea chloroplasts to light intensities. I. Study on the distribution of chlorophyll-protein complexes. Photosynth. Res. **5**, 105 - 115
- Leung J, Giraudat J (1998) Absciscic acid signal transduction. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. **49**, 199 - 222
- Leverenz JW,  quist G, Wingsle G (1992) Photosynthesis and photoinhibition in leaves of chlorophyll *b*-less barley in relation to absorbed light. Physiol. Plant. **85**, 495 - 502
- Levitt J (1972) Responses of plants to environmental stress. Academic Press, New York
- Lewenstein A, Bachofen R (1972) Transient induced oscillations in the level of ATP in *Chlorella fusca*. Biochim. Biophys. Acta. **267**, 80 - 85
- Liang N, Nagayama M, Nakata M, Maruyama K (1995) Growth, photosynthesis and nitrogen content in Japanese beech (*Fagus crenata* Bl.) seedlings grown under five irradiances. Photosynthetica **31** (2), 257 - 268
- Lichtenthaler HK (1968) Plastoglobulae and the fine structure of plastids. Endeavour **27**, 144 - 149
- Lichtenthaler HK (1996) Vegetation Stress: an Introduction to the Stress Concept in Plants. J. Plant Physiol. **148**, 4 - 14
- Lichtenthaler HK, Buschmann C, D ll M, Fietz H-J, Bach T, Kozel U, Meier D, Rahmsdorf U (1981) Photosynthetic activity, chloroplast ultrastructure and leaf characteristics of high-light and low-light plants and of sun and shade leaves. Photosynth. Res. **2**, 115 - 141
- Lichtenthaler HK, Kuhn G, Prenzel U, Buschmann C, Meier D (1982) Adaptation of chloroplast ultrastructure and of chlorophyll-protein levels to high-light and low-light growth conditions. Z. Naturforsch. **37C**, 464 - 475
- Lichtenthaler HK, Wellburn AR (1983) Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b in leaf extracts in different solvents. Biochem. Soc. Trans. **11** (603), 591 - 592
- Löffler S (1986) Experimentelle Untersuchungen zur Physiologie der cyanidresistenten Atmung bei höheren Pflanzen. Diss. A, HU, Math.-Nat. Fak., Berlin
- Löffler S (1990) Nutzung des ATP/ADP-Verhältnisses und des EC zur Beurteilung der Wirkung von Faktoren auf den Energiestoffwechsel höherer Pflanzen. In: Hoffmann P, Rank B (eds.) Colloquia Pflanzenphysiologie HUB **14**, 25 - 28

- Long SP, Hällgren J-E (1993) Measurement of CO₂ assimilation by plants in the field and the laboratory. In: Hall DO, Scurlock JMO, Bolhàr-Nordenkamp HR, Leegood RC, Long SP (eds.) Photosynthesis and Production in a Changing Environment. A field and laboratory manual. Chapman & Hall, London, 129 - 167
- Longstreth DJ, Hartsock TL, Nobel PS (1981) Light effects on leaf development and photosynthetic capacity of *Hydrocotyle bonariensis* Lam. Photosynth. Res. **2**, 95 - 104
- Lowry OH, Passoneau JV, Rock MK (1961a) The stability of pyridine nucleotides. J. Biol. Chem. **236** (10), 2756 - 2759
- Lowry OH, Passoneau JV, Schulz DW, Rock MK (1961b) The measurement of pyridine nucleotides by enzymatic cycling. J. Biol. Chem. **236** (10), 2746 - 2755
- Lozovaya VV, Zabolotina OA, Widholm JM (1996) Synthesis and turnover of cell-wall polysaccharides and starch in photosynthetic soybean suspension cultures. Plant Physiol. **111** (3), 921 - 929
- Luquez VM, Guamet JJ, Montaldi ER (1997) Net photosynthetic and transpiration rates in a chlorophyll-deficient isolate of soybean under well-watered and drought conditions. Photosynthetica **34** (1), 125 - 131
- Makino A, Osmond B (1991) Effects of nitrogen nutrition on nitrogen partitioning between chloroplasts and mitochondria in pea and wheat. Plant Physiol. **96**, 355 - 362
- Malinowski DP, Belesky DP, Fedders J (1998) Photosynthesis of white clover (*Trifolium repens* L.) germplasms with contrasting leaf size. Photosynthetica **35** (3), 419 - 427
- Mangat BS (1982) Influence of Soil and Air Temperature on I. Nucleotide Metabolism and Growth of *Phaseolus vulgaris* L. seedlings. J. Exp. Bot. **33** (133), 269 - 278
- Mansfield TA, Hetherington AM, Atkinson CJ (1990) Some current aspects of stomatal physiology. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. **41**, 55 - 75
- Martin T, Hellmann H, Schmidt R, Willmitzer L, Frommer WB (1997) Identification of mutants in metabolically regulated gene expression. Plant Journal **11** (1), 53 - 62
- Mathis JN, Burkey KO (1989) Light intensity regulates the accumulation of the major light-harvesting chlorophyll-protein in greening seedlings. Plant Physiol. **90**, 560 - 566
- Matorin DN, Pörs Y, Hoffmann P (1999) Changes in light sensitivity of photosynthesis in tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants transformed with the antisense gene of glutamate - 1 semialdehyde aminotransferase. Russ. J. Plant Physiol. **46** (4), 467-473.
- Matorin DN, Pörs Y, Hoffmann P (1999) [Changes in light-sensitivity of photosynthesis of tobacco plants (*Nicotiana tabacum*) due to transformation with glutamate-1-semialdehyde aminotransferase antisense gene] (in russ.). Fisiologija rastenii, in press
- Meidner H, Mansfield TA (1968) Physiology of Stomata. McGraw-Hill Press, London
- Melis A, Manodori A, Glick RE, Ghirardi ML, McCauley SW, Neale PJ (1985) The mechanism of photosynthetic membrane adaptation to environmental stress conditions: a hypothesis on the role of electron-transport capacity and of ATP/NADPH pool in the regulation of thylakoid membrane organization and function. Physiol. Veg. **23** (5), 757 - 765
- Michael K (1954) Untersuchungen über die photosynthetische Leistung gelbblättriger Gehölze. Flora **141**, 389 - 431
- Miyake H, Furukawa A, Totsuka T, Maeda E (1984) Differential effects of ozone and SO₂ on the fine structure of spinach leaf cells. New Phytol. **96**, 215 - 228

- Mohr H, Schopfer P (1992) Pflanzenphysiologie. Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg - New York
- Morales D, Jimenez MS, Caballero M (1991) Morphological and gas exchange response of *Canarina canariensis* (L.) Vatke to sun and shade. *Photosynthetica* **25** (4), 481 - 487
- Muschak M (1997) Physiologische Untersuchungen an Pflanzen, die ein mRNA-antisense-Konstrukt gegen die chloroplastische Fructose-1,6-bisphosphatase exprimieren. Diss A, HU, Math.-Nat. Fak. I, Berlin
- Muschak M, Hoffmann-Benning S, Fuss H, Koßmann J, Willmitzer L, Fisahn J (1997) Gas exchange and ultrastructural analysis of transgenic potato plants expressing a mRNA antisense construct targeted to the cp-fructose-1,6-bisphosphate phosphatase. *Photosynthetica* **33** (3 - 4), 455 - 465
- Muthuchelian K (1992) Biomass productivity relative to net photosynthetic rate, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase activity, soluble protein and nitrogen contents in ten tree species. *Photosynthetica* **26** (3), 333 - 339
- Neuhaus HE, Thom E, Mohlmann T, Steup M, Kampfenkel K (1997) Characterization of a novel eukaryotic ATP/ADP translocator located in the plastid envelope of *Arabidopsis thaliana* L. *Plant J.* **11** (1), 73 - 82
- Nicolai Y (1990) [Einfluß der Formen mineralischen Stickstoffs auf die Regeneration des Kohlendioxid-Primärakzeptors unter Lichteinfluß in den Blättern von C4-Pflanzen] (in russ.). Diplomarbeit, LGU, Biol-Bodenkundl. Fak., Leningrad
- Niewiadomska E, Miszalski Z (1995) Does CO₂ modify the effect of SO₂ on variegated leaves of *Chlorophytum comosum* (Thunb) Bak. *New Phytologist* **130** (3), 461 - 466
- Niinemets Ü, Tenhunen JD (1997) A model separating leaf structural and physiological effects on carbon gain along light gradients for the shade-tolerant species *Acer saccharum*. *Plant Cell Environ.* **20**, 845 - 866
- Nijs I, Behaeghe T, Impens I (1995) Leaf nitrogen content as a predictor of photosynthetic capacity in ambient and global change conditions. *J. Biogeography* **22** (2 - 3), 177 - 183
- Nikolaeva MK (1994) Functional activity and adaptive properties of the photosynthetic apparatus in plants grown under different irradiances. *Photosynthetica* **30** (1), 69 - 76
- Noack H (1994) Untersuchungen zur Wechselbeziehung von energetischem Zustand und Wirksamkeit antioxidativer Schutzsysteme im Verlauf der Fe⁺/Ascorbat-induzierten Lipidperoxidation in Rattenlebermitochondrien. Diss. A, HU, Math.-Nat. Fak., Berlin
- Nobel PS (1976) Photosynthetic rates of sun versus shade leaves of *Hyptis emoryi* Torr. *Plant Physiol.* **58**, 218 - 223
- Nobel PS, Zaragoza LJ, Smith WK (1975) Relation between mesophyll surface area, photosynthetic rate, and illumination level during development for leaves of *Plectranthus parviflorus* Henckel. *Plant Physiol.* **55**, 1067 - 1070
- Ono K, Watanabe A (1997) Levels of endogenous sugars, transcripts of rbcS and rbcL, and of Rubisco protein in senescing sunflower leaves. *Plant Cell Physiol.* **38** (9), 1032 - 1038
- Osmond CB, Grace SC (1995) Perspectives on photoinhibition and photorespiration in the field: quintessential inefficiencies of the light and dark reactions of photosynthesis? *J. Exp. Bot.* **46** (Special Issue), 1351 - 1362
- Osswald WF, Elstner EF (1986) Mechanismen der pathologischen Pigmentbleichung bei Pflanzen. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* **99**, 341 - 365

- Ostareck D (1990a) Parameter des photosynthetischen Gaswechsels und der RuBPCO von Weizenprimärblattspreiten im Verlauf der Anzucht bei unterschiedlichem Lichtregime. In: Hoffmann P, Rank B (eds.) Colloquia Pflanzenphysiologie HUB **14**, 133 - 138
- Ostareck D (1990b) Zum Einfluß unterschiedlicher Licht- und Temperaturregime während der Anzucht auf Morphologie, Gaswechsel, RuBPCO und Pigmentgehalt von Weizenkeimpflanzen (*Triticum aestivum* L.). Diss. A, HU, Math.-Nat. Fak. I, Berlin
- Ostrowskaja LK (1982) [Ultrastructural and functional specification of organization of chloroplasts and photosynthetic electron transport chains] (in russ.). In: Nitschporovitscha AA (ed.) Physiologija fotosynthesa. Nauka, Moskwa, 76 - 88
- Pärnik T, Talts P, Gardeström P, Keerberg O (1995) Influence of temperature on photosynthesis and respiration of primary leaves of barley. In: Mathis P (ed.) Photosynthesis: from light to biosphere. Vol. IV, 889 - 892
- Paul MJ, Knight JS, Habash D, Parry MAJ, Lawlor DW, Barnes SA, Loynes A, Gray JC (1995) Reduction in phosphoribulokinase activity by antisense RNA in transgenic tobacco: effect on CO₂ assimilation and growth in low irradiance. The Plant J. **7**, 535 - 542
- Pavlinova OA, Afanasjeva TP (1962) [Acid-soluble nucleotides and phosphorylated sugars in the conducting tissues of sugar beet] (in russ.). Fiziologija Rastenii **9**, 133 - 141
- Pazourek J (1963) Studium listové epidermis mikroreliefovou metodou [Study of the epidermis of leaves by microrelief method] (in tschech.). Preslia **35**, 210 - 216
- Pazourek J (1970) The effect of light intensity on stomatal frequency in leaves of *Iris hollandica* hort., var. Wedgwood. Biol. Plant. **12** (3), 208 - 215
- Peine G (1985) Pyridinnucleotide und deren Redoxstatus in Weizenkeimpflanzen (*Triticum aestivum* L.) im Verlauf ihrer normalen Entwicklung und unter belastenden Bedingungen. Diss. A, HU, Math.-Nat. Fak. I, Berlin
- Peine G, Bahnsen K, Walter G, Hoffmann P (1990) Protochlorophyllide reduction and pyridine nucleotide redox state during greening of protoplasts and etioplasts from *Avena sativa* L. In: Baltscheffsky M (ed.) Current Research in Photosynthesis. Vol. III, 885 - 887
- Peine G, Hoffmann P., Seifert G., Schilling G (1985) Pyridine nucleotide pattern and reduction charge in wheat seedlings with special regard to different photosynthetic conditions. Biochem. Physiol. Pfl. **180**, 1 - 14
- Peine G, Pilz K, Walter G, Dujardin EC, Hoffmann P (1993) Pyridine nucleotide contents and activity of protochlorophyllide photooxidoreductase in vivo. 2. Comparative investigations in protoplasts and etioplasts of *Avena sativa* L. during greening. Photosynthetica **29** (1), 13 - 24
- Peisker M, Apel P (1980) Dark respiration and the effect of oxygen on CO₂ compensation concentration in wheat leaves. Z. Pflanzenphysiol. **100**, 389 - 395
- Pfeffer M (1997) Gaswechsel und biochemische Grundlagen für Modellansätze zur Analyse der Regulation der C₄-Photosynthese. Diss. A, HU, Math.-Nat. Fak. I, Berlin
- Polevoi WW (1989) [Plant Physiology] (in russ.). Moskva, Wuis'schaja Schkola
- Polle A (1996) Mehler Reaction: Friend or foe in photosynthesis? Bot Acta **109**, 84 - 89
- Polle A, Eiblmeier M (1995) Carbohydrate accumulation affects the redox state of ascorbate in detached tobacco leaves. Bot Acta **108**, 432 - 438

- Pörs Y, Reinhardt I, Hoffmann P, Grimm B (1996) CO₂-Gaswechsel und Photosynthese-pigmente in Abhängigkeit von der Lichtintensität in Tabakpflanzen mit reduzierter Chlorophyllsynthese. Botanikertagung, 25. - 31. Aug. 1996, Düsseldorf, Abstractband, 159
- Portis AR Jr, Salvucci ME, Ogren WL (1986) Activation of ribulosebisphosphate carboxylase/oxygenase at physiological CO₂ and ribulosebisphosphate concentrations by Rubisco activase. *Plant Physiol.* **82**, 967 - 971
- Pradet A, Raymond P (1983) Adenine nucleotide ratios and adenylate energy charge in energy metabolism. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **34**, 199 - 224
- Preiss M, Koopmann E, Meyer G, Koyro H-W, Schultz G (1994) Malate as Additional Substrate for Fatty Acid Synthesis in a C₄-Plant Type Developed by Salt Stress from a C₃-Plant Type Maize. A Screening for Malate as Substrate for Fatty Acid Synthesis in Chloroplasts. *J. Plant Physiol.* **143**, 544 - 549
- Price GD, Evans JR, von Caemmerer S, Yu JW, Badger MR (1995) Specific reduction of chloroplast glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase activity by antisense RNA reduces CO₂ assimilation via a reduction in ribulose bisphosphate regeneration in transgenic tobacco plants. *Planta* **195**, 369 - 378
- Prioul JL (1971) Réactions des feuilles de *Lolium multiflorum* à l'éclairement pendant la croissance et variation des résistances au transfert de CO₂ (in franz.). *Photosynthetica* **5**, 364 - 375
- Quebedeaux B (1981) Adenylate and nicotinamide nucleotides in developing soybean seeds during seed-fill. *Plant Physiol.* **68**, 23 - 27
- Quick P, Neuhaus E, Feil R, Stitt M (1989) Fluoride leads to an increase of inorganic pyrophosphate and an inhibition of photosynthetic sucrose synthesis in spinach leaves. *Biochim. Biophys. Acta* **973**, 263 - 271
- Quick WP, Schurr U, Scheibe R, Schulze E-D, Rodermeier SR, Bogorad L, Stitt M (1991) Decreased ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase in transgenic tobacco transformed with "antisense" rbcS. I. Impact on photosynthesis in ambient growth conditions. *Planta* **183**, 542 - 554
- Rao IM, Arulanantham AR, Terry N (1990) Diurnal changes in adenylates and nicotinamide nucleotides in sugar beet leaves. *Photosynth. Res.* **23**, 205 - 212
- Rao IM, Terry N (1994) Leaf phosphate status and photosynthesis in vivo: Changes in sugar phosphates, adenylates and nicotinamide nucleotides during photosynthetic induction in sugar beet. *Photosynthetica* **30** (2), 243 - 254
- Raymond P, Gidrol X, Salon C, Pradet A (1987) Control involving adenine and pyridine nucleotides. In: Davies DD (ed.) *The Biochemistry of Plants. Vol. 11: Biochemistry of Metabolism*. Academic Press, San Diego, 129 - 176
- Reinhardt I (1996) Photochemische Verwertung und nichtphotochemische Dissipation der Anregungsenergie in transgenen Pflanzen von *Nicotiana tabacum* L. mit verringerter Chlorophyllbiosynthese. Untersuchungen zu Chlorophyllfluoreszenz und CO₂-Gaswechsel. Diplomarbeit, HU, Math.-Nat. Fak. I, Berlin
- Reynolds ES (1963) The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* **17**, 208 - 212
- Reyss A, Prioul JL (1975) Carbonic Anhydrase and Carboxylase Activities from Plants (*Lolium multiflorum*) Adapted to Different Light Regimes. *Plant Science Letters* **5**, 189 - 195
- Robinson SP, Portis AR Jr (1988) Involvement of stromal ATP in the light activation of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in intact isolated chloroplasts. *Plant Physiol.* **86**, 293 - 298

- Roshchina VV, Karpilova IP, Bozhok GV, Gostimskii SA (1983) Photosynthesis of pea mutants with damaged photosystems. *Photosynthetica* **17**, 590 - 596
- Rühle W, Wild A (1985) Die Anpassung des Photosyntheseapparates höherer Pflanzen an die Lichtbedingungen. *Naturwissenschaften* **72**, 10 - 16
- Šantrucek J, Šiffel P, Lang M, Lichtenthaler HK, Schindler C, Synkova H, Konecna V, Szabo K (1992) Photosynthetic activity and chlorophyll fluorescence parameters in aurea and green forms of *Nicotiana tabacum*. *Photosynthetica* **27** (4), 529 - 543
- Schäfer C, Schmid V, Roos M (1994) Characterization of high-light-induced increases in xanthophyll cycle pigment and lutein contents in photoautotrophic cell cultures. *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.* **22**, 67 - 75
- Scheibe R (1987) NADP⁺-malate dehydrogenase in C₃-plants: Regulation and role of a light-activated enzyme. *Physiol. Plant.* **71**, 393 - 400
- Scheibe R (1990) Light/dark modulation: Regulation of chloroplast metabolism in a new light. *Bot Acta* **103**, 327 - 334
- Scheibe R, Stitt M (1988) Comparison of NADP-malate dehydrogenase activation, Q_A reduction and O₂ evolution in spinach leaves. *Plant Physiol. Biochem.* **26** (4), 473 - 481
- Scheibe R, Wagenpfeil D, Fischer J (1986) NADP-malate dehydrogenase activity during photosynthesis in illuminated spinach chloroplasts. *J. Plant Physiol.* **124**, 103 - 110
- Schindler C, Reith P, Lichtenthaler HK (1994) Differential levels of carotenoids and decrease of zeaxanthin cycle performance during leaf development in a green and an aurea variety of tobacco. *J. Plant Physiol.* **143**, 500 - 507
- Schlee D (1992) *Ökologische Biochemie*. Gustav Fischer Verlag, Jena - Stuttgart - New York
- Schmid V, Schäfer C (1994) Alterations of the chlorophyll-protein pattern in chronically photoinhibited *Chenopodium rubrum* cells. *Planta* **192**, 473 - 479
- Schulte M (1993) Saisonale und interannuelle Variabilität des CO₂-Gaswechsels von Buchen (*Fagus sylvatica* L.) - Bestimmung von C-Bilanzen mit Hilfe eines empirischen Modells. Diss. A, Uni. Göttingen, Verlag Shaker, Aachen
- Schulze ED (1970) Der CO₂-Gaswechsel der Buche (*Fagus sylvatica* L.) in Abhängigkeit von den Klimafaktoren im Freiland. *Flora* **159**, 177 - 232
- Schwarz HP (1983) The light harvesting chlorophyll protein complex from wild type and chlorophyll deficient mutants of pea (*Pisum sativum* L.). In: Workshop Mol. Struct. Funct. Light-Harvest. Pigment-Protein Complexes and Photosynth. React. Cent., Zurich, 113 - 114
- Sebaa ED, Prioul JL, Brangeon J (1987) Acclimation of adult *Lolium multiflorum* leaves to changes in irradiance: Effect on leaf photosynthesis and chloroplast ultrastructure. *J. Plant Physiol.* **127**, 431 - 441
- Šesták Z (1981) Leaf ontogeny and photosynthesis. In: Johnson CB (ed.) *Physiological processes limiting plant productivity*. Butterworths, 147 - 158
- Šesták Z (1985) Chlorophylls and carotenoids during leaf ontogeny. In: Šesták Z (ed.) *Photosynthesis during leaf development*. Academia, Praha, 76 - 106
- Seyle H (1936) A syndrome produced by various nocuous agents. *Nature* **138**, 32 - 34

- Sharkey TD (1985) Photosynthesis in intact leaves of C3 plants: Physics, physiology and rate limitations. *The Bot. Rev.* **51**, 53 - 105
- Sharkey TD, Loreto F (1993) Water stress, temperature, and light effects on the capacity for isoprene emission and photosynthesis of kudzu leaves. *Oecologia* **95**, 328 - 333
- Sharkova VE, Bubolo LS (1996) Effect of heat stress on the arrangement of thylakoid membranes in the chloroplasts of mature wheat leaves. *Russian J. Plant Physiol.* **43** (3), 358 - 365
- Sharma A, Sengupta UK (1997) Carbon allocation and partitioning in *Vigna radiata* (L.) Wilczek as affected by additional carbon gain. *Photosynthetica* **34** (3), 419 - 426
- Sheen J (1994) Feedback control of gene expression. *Photosynth. Res.* **39**, 427 - 438
- Siebek K, Laisk A, Oja V, Kiirats O, Raschke K, Heber U (1990) Control of photo-synthesis in leaves as revealed by rapid gas exchange and measurements of the assimilatory force F_A . *Planta* **182**, 513 - 522
- Siedlecka A, Krupa Z, Samuelsson G, Öquist G, Gardeström P (1997) Primary carbon metabolism in *Phaseolus vulgaris* plants under Cd/Fe interaction. *Plant Physiol. Biochem.* **35**, 951 - 957
- Siedow JN (1990) Regulation of the cyanide-resistant respiratory pathway. In: Zelitch I, (ed.) *Perspectives in Biochemical and Genetic Regulation of Photosynthesis*. 355 - 366
- Siefermann-Harms D (1985) Carotenoide in photosynthesis. I. Location in photosynthetic membranes and light harvesting function. *Biochim. Biophys. Acta* **811**, 325 - 355
- Siefermann-Harms D (1990) Protective function of the apoprotein of the light-harvesting chlorophyll a/b-protein complex in pigment photooxidation. *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.* **4**, 283 - 295
- Šiffel P, Šantrucek J, Lang M, Braunova Z, Šimkova M, Synkova H, Lichtenthaler HK (1993) Age dependence of photosynthetic activity, chlorophyll fluorescence parameters and chloroplast ultrastructure in aurea and green forms of *Nicotiana tabacum* Su/su mutant. *Photosynthetica* **29** (1), 81 - 94
- Slater TF, Sawyer B (1962) A colorimetric method for estimating the pyridine nucleotide content of animal tissue. *Nature* **193**, 454 - 456
- Smirnoff N (1995) Metabolic flexibility in relation to the environment. In: Smirnoff N (ed.) *Environment and Plant Metabolism. Flexibility and Acclimation*. BIOS Scientific publishers, 1 - 16
- Soldatini GF, Nali C, Guidi L, Lorenzini GL (1998) Photosynthesis of *Hedera canariensis* var. *azorica* variegated leaves as affected by ozone. *Photosynthetica* **35** (2), 247 - 253
- Spurr AR (1969) A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* **26**, 31 - 43
- Srivastava A, Strasser RJ (1995) Stress and stress management of land plants during a regular day. *J. Plant Physiol.* **148**, 445 - 455
- Stitt M, McLilley R, Heldt HW (1982) Adenine nucleotide levels in the cytosol, chloroplasts, and mitochondria of wheat leaf protoplasts. *Plant Physiol.* **70**, 971 - 977
- Strasser RJ, Srivastava A, Haldimann P (1996) Licht. In: Brunold C, Rügsegger A, Brändle R (eds.) *Stress bei Pflanzen. Ökologie, Physiologie, Biochemie, Molekularbiologie*. Verlag Paul Haupt, Bern - Stuttgart - Wien, 89 - 102
- Streusand VJ, Portis AR Jr (1987) Rubisco activase mediates ATP-dependent activation of ribulose biphosphate carboxylase. *Plant Physiol.* **85**, 152 - 154

- Stryer L (1995) Biochemistry. 4th edition. W. H. Freeman and Company, New York
- Tabrizi H, Plieth C, Giannikos I, Hansen U-P, Sattelmacher B (1994) Effect of different N-nutrients on photoacoustic signals from tobacco and maize. Botanikertagung Beyreuth, Tagungsbd., 180
- Taiz L, Zeiger E (eds.) (1998) Plant Physiology. 2nd edition, Sinauer Associates, W. H. Freeman, UK
- Talwar G, Dua A, Singh R (1996) CO₂ exchange, primary photochemical reactions and certain enzymes of photosynthetic carbon reduction cycle of *Brassica* pods under reduced irradiance. Photosynthetica **32** (2), 221 - 229
- Terry N, Farquhar GD (1984) Photochemical capacity and photosynthesis. In: Pearson CJ (ed.) Control of Crop Productivity. Academic Press, 43 - 57
- Tezara W, Fernández MD, Donoso C, Herrera A (1998) Seasonal changes in photosynthesis and stomatal conductance of five plant species from a semiarid ecosystem. Photosynthetica **35** (3), 399 - 410
- Thayer SS, Björkman O (1990) Leaf xanthophyll content and composition in sun and shade determined by HPLC. Photosynth. Res. **23**, 331 - 343
- Thielen APGM, van Gorkom HJ (1981) Quantum efficiency and antenna size of photosystem II_a, II_b and I in tobacco chloroplasts. Biochim. Biophys. Acta **635**, 111 - 120
- Tichá I (1982) Photosynthetic characteristics during ontogenesis of leaves. 7. Stomata density and sizes. Photosynthetica **16**, 375 - 471
- Tichá I (1985) Ontogeny of leaf morphology and anatomy. In: Šesták Z (ed.) Photosynthesis during leaf development. Academia, Praha, 16 - 50
- Tietze A (1963) Die Photosyntheseintensität nach experimentell verändertem Chlorophyllgehalt bei *Chlorophytum comosum*. Staatsexamensarbeit, HU, Math.-Nat. Fak., Berlin
- Trainotti L, Höfgen R, Grimm B (1993) Suppression of chlorophyll biosynthesis in tobacco plants by antisense gene expression. 5th Congress Europ. Soc. Photobiol., Marburg, Book of Abstracts, 116
- Turrell FM (1936) The area of the internal exposed surface of dicotyledon leaves. Am. J. Bot. **23**, 255 - 264
- Vaishlya OB, Ladygin VG, Sokolov VA, Semenova GA (1998) Characterization of photosynthetic apparatus of pea chlorophyll mutants and their heterotic F₁ hybrids with standard genotype (cv. Torsdag). Photosynthetica **35** (3), 428 - 443
- Vanselow KH (1993) The Effect of N-nutrients on the Acceptor Pool of PSI and Thylakoid Energization as Measured by Chlorophyll Fluorescence of *Dunaliella salina*. J. Exp. Bot. **44** (265), 1331 - 1340
- von Caemmerer S, Farquhar GD (1981) Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. Planta **153**, 376 - 387
- von Wettstein D, Gough S, Kannangara CG (1995) Chlorophyll biosynthesis. Plant Cell **7**, 1039 - 1057
- von Willert DJ, Matyssek R, Herppich W (1995) Experimentelle Pflanzenökologie: Grundlagen und Anwendungen. Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New York
- Wagenitz G (1996) Wörterbuch der Botanik: Morphologie, Anatomie, Taxonomie, Evolution. Gustav Fischer Verlag, Jena - Stuttgart - Lübeck - Ulm

- Walter G, Hoffmann P (1988) Photosynthetische Größen in der Photosyntheseforschung. In: Hoffmann P, Rank B (eds.) Colloquia Pflanzenphysiologie HUB **12**, 73 - 80
- Weidmann P, Einig W, Egger B, Hampp R (1990) Contents of ATP and ADP in needles of Norway spruce in relation to their development, age, and to symptoms of forest decline. *Trees* **4**, 68 - 74
- Wild A (1979) Physiology of photosynthesis in higher plants. The adaptation to light intensity and light quality. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* **92**, 941 - 964
- Wild A (1988) Licht als Streßfaktor bei Waldbäumen. *Naturwiss. Rundschau* **41** (3), 93 - 96
- Wild A, Höhler T (1978) Die Wirkung unterschiedlicher Lichtintensitäten während der Anzucht auf die CO₂-Kompensationslage, die Glykolsäure-Oxidase- und Ribulosebiphosphat-Carboxylase-Aktivitäten bei *Sinapis alba*. *Z. Pflanzenphysiol.* **87**, 413 - 428
- Wild A, Höpfner M, Rühle W, Richter M (1986) Changes in the stoichiometry of photosystem II components as an adaptative response to high-light and low-light conditions during growth. *Z. Naturforsch.* **41C**, 597 - 603
- Wild A, Zerbe R (1977) The effects of different light intensities on the nitrate reductase activity, the concentration of soluble proteins and soluble reducing sugars of *Sinapis alba* during growth from the germination to the flowering of the plants. *Biochem. Physiol. Pfl.* **171**, 201 - 209
- Wildner GF (1975) The regulation of glucose-6-phosphate dehydrogenase in chloroplasts. *Z. Naturforsch.* **30C**, 756 - 760
- Wilhelmova N, Kutik J (1995) Influence of exogenously applied 6-benzylaminopurine on the structure of chloroplasts and arrangement of their membranes. *Photosynthetica* **31** (4), 559 - 570
- Willstätter R, Stoll G (1918) Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. Berlin
- Woitke P, Martin C-D, Nicklisch S, Kohl J-G (1994) HPLC determination of lipophilic photosynthetic pigments in algal cultures and lake water samples using a non-endcapped C18-RP-column. *Fresenius J. Anal. Chem.* **348**, 762 - 768
- Wong SC, Cowan IR, Farquhar GD (1979) Stomatal conductance correlates with photosynthetic capacity. *Nature* **282**, 424 - 426
- Woodrow IE, Berry JA (1988) Enzymatic regulation of photosynthetic CO₂ fixation in C₃ plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **39**, 533 - 594
- Wright DP, Baldwin BC, Shephard MC, Scholes JD (1995) Source-sink relationships in wheat leaves infected with powdery mildew. 2. Changes in the regulation of the Calvin cycle. *Physiol. Mol. Plant Pathology* **47** (4), 255 - 267
- Wu J, Neimanis S, Heber U (1991) Photorespiration is more effective than the Mehler reaction in protecting the photosynthetic apparatus against photoinhibition. *Bot. Acta* **104**, 283 - 291
- Wulff K, Döppen W (1985) ATP: luminometric method. In: Bergmeyer HU (ed.) *Methods of Enzymatic Analysis*. 3. Ausg., Bd. 7, Verlag Chemie, Weinheim, 357 - 364
- Xia MZ (1995) Effect of shading on nodule growth and seed yield in faba bean (*Vicia faba* L.). *Tropical Agriculture* **72** (4), 290 - 296
- Xu DQ, Chen XM, Zhang LX, Wang RF, Hesketh JD (1993) Leaf photosynthesis and chlorophyll fluorescence in a chlorophyll-deficient soybean mutant. *Photosynthetica* **29** (1), 103 - 112

- Yani A, Pauly G, Faye M, Salin F, Gleizes M (1993) The effect of a long-term water stress on the metabolism and emission of terpenes of the foliage of *Cupressus sempervirens*. Plant Cell Environ. **16**, 975 - 981
- Zhang SS, Hennessey TC, Heinemann RA (1997) Acclimation of loblolly pine (*Pinus taeda*) foliage to light intensity as related to leaf nitrogen availability. Canad. J. Forest Res. **27** (7), 1032 – 1040

DANKSAGUNG

Hier möchte ich allen danken, die zum Gelingen dieser Arbeit beitrugen.

Herrn Prof. Dr. P. Hoffmann danke ich für die Überlassung des interessanten Themas, seine stete Diskussionsbereitschaft und die hilfreichen Gespräche sowie den großen Freiraum, den er mir bei der Entwicklung der Thematik ließ.

Bei Herrn Prof. Dr. E. Beck und Herrn Prof. Dr. T. Buckhout bedanke ich mich für ihre Bereitschaft, diese Arbeit zu begutachten.

Dankeschön an Herrn Dr. Bernhard Grimm und seine Arbeitsgruppe im Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung Gatersleben für die Bereitstellung des Pflanzenmaterials.

Ein herzlicher Dank gilt Herrn Dr. W. Bleiß und Frau A. Marko aus der AG Molekulare Parasitologie, die viel Zeit und Geduld aufbrachten, um die Proben für die licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen aufzuarbeiten sowie die Aufnahmen anzufertigen. Vielen Dank ebenso an Herrn Dr. J. Kutik, der während meines Aufenthaltes an der Karls-Universität Prag die Grundlagen für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen legte und mir das notwendige Wissen auf diesem Gebiet vermittelte.

Herrn Dr. Gerd Albrecht aus dem Arboretum danke ich für die Durchführung der HPLC-Analytik der Zuckerproben.

Bei Frau R. Kräft aus der AG Ökologie bedanke ich mich für die technische Unterstützung bei den C- und N-Analysen.

Frau Dr. Ute Hansen möchte ich für die Hilfe bei der Absorptionsbestimmung sowie für die Überlassung der Ergebnisse zur ETR ebenso danken wie für die sorgfältige Durchsicht dieser Arbeit.

Ein großes Dankeschön richte ich an Frau Erika Helmer für die liebevolle Aufzucht und Pflege der Tabakpflanzen und für die zahlreiche technische Assistenz, besonders bei "vierhändigen" Versuchen.

Almut Fischer danke ich für die zuverlässigen und prompten Pigmentanalysen per HPLC.

Herzlich danke ich allen Mitarbeitern der AG Pflanzenphysiologie, die mir durch Gespräche, Tips und Tatkraft direkt bei meiner Arbeit halfen sowie die für ein angenehmes Arbeitsklima sorgten; namentlich Danke an Frau Dr. B. Rank und an Almut, Brita, Erika, Kay, Michael und Ute.

Ganz besonders herzlich bedanke ich mich bei Frau Dr. Erika Fischer, die neben vielen hilfreichen Tips zu Gaswechselproblemen mir in schwierigen Phasen, vor allem während des Zusammenschreibens, zur Seite stand und zur zwischenzeitlich notwendigen "Chaosbewältigung" in meinen Gedanken beitrug. Ebenso danke ich ihr für die gewissenhafte Durchsicht meiner Arbeit.

Mein größter Dank gilt meinen Eltern und meinem Ehemann Dirk... .

ERKLÄRUNG

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Berlin, 24. Februar 1999

Yvonne Pörs

TABELLARISCHER LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Name:	Yvonne Pörs, geb. Nicolai
geboren:	30. November 1966
<i>in:</i>	Naumburg/Saale
Staatsangehörigkeit:	Deutsch
Familienstand:	Verheiratet

Ausbildungsdaten/Tätigkeiten

1973 – 1983	Allgemeinbildende Polytechnische Oberschule Naumburg, Abschluss mit “ausgezeichnet”
1983 – 1985	Erweiterte Oberschule Naumburg, Abitur mit “ausgezeichnet”
Sept. 1985 – Aug. 1990	Studium an der Biologisch-bodenkundlichen Fakultät der Staatlichen Universität zu Leningrad (Lehrstuhl für Biochemie und Physiologie der Pflanzen), Abschluss mit “sehr gut”; Diplomthema: “Einfluss der Formen mineralischen Stickstoffs auf die Regeneration des Kohlendioxid-Primärakzeptors unter Lichteinfluss in den Blättern von C ₄ -Pflanzen”
Juli/Aug. 1989	Teilnahme an einer wissenschaftlichen Expedition zur Biologischen Station der Universität zu Leningrad am Weißen Meer
01.09.90 – 30.06.91	Arbeitslos/Aushilfstätigkeiten
01.07.91 – 28.02.93	Wissenschaftliche Mitarbeiterin bei der “Meßzelle e. V.”, Institut für Umweltanalytik an der TU Berlin
01.03.93 – 31.05.94	Wissenschaftliche Mitarbeiterin im Forschungsinstitut für Molekulare Pharmakologie, Berlin
01.06.94 – 28.02.95	Arbeitslos/Beantragen von Forschungsprojekten
01.03.95	Beginn der Promotion im Institut für Biologie/Pflanzenphysiologie, Humboldt-Universität zu Berlin, davon:
01.03.95 – 28.02.97	Wissenschaftliche Mitarbeiterin (DFG-finanziert)
Nov. 1995	Forschungsaufenthalt an der Karls-Universität Prag

PUBLIKATIONEN

Nikitin, D. B., **Nicolai, Y.** (1990) Primary CO₂-acceptor regeneration in light in leaves of C₄ plants (in russ.). Westnik LGU, Serie 3, **3**, Nr. 17, S. 81 – 87

Schmidt, M., **Pörs, Y.**, Geue, S., Süßenbach, B. (1991) Trinkwasserleitungen in der Hausinstallation. Modernisierungsmarkt, **12**, S. 13 – 18

Pörs, Y., Süßenbach, B., Geue, S., Schmidt, M. (1991) Trinkwasserleitungen in der Hausinstallation - Gesundheitsgefährdung, Umweltbelastung und Haltbarkeit von neueren und etablierten Rohrmaterialien im Vergleich. Meßzelle e. V., Berlin, 48 S.

Schmidt, M., Geue, S., **Pörs, Y.**, Süßenbach, B. (1993) Gesundheitliche Risiken bei Trinkwasserhausinstallationen aus Metall und Kunststoff. In: Diel F. (Hrsg.) Innenraumbelastungen. Erkennen – Bewerten – Sanieren, Bauverlag GmbH Wiesbaden, Berlin, S. 191 – 199

Pörs, Y., Reinhardt, I., Hoffmann, P., Grimm B. (1996) Gas exchange and biomass production in transgenic tobacco plants with reduced chlorophyll synthesis grown under low and high light conditions. 9. Arbeitstagung “Photosynthese” Egisdorf, 11. – 14. April 1996, Poster

Pörs, Y., Reinhardt, I., Hoffmann, P., Grimm B. (1996) CO₂-Gaswechsel und Photosynthesepigmente in Abhängigkeit von der Lichtintensität in Tabakpflanzen mit reduzierter Chlorophyllsynthese. Botanikertagung Düsseldorf, 25. – 31. August 1996, Tagungsband, S. 159

Pörs, Y. (1996) CO₂-Gaswechsel und Energiehaushalt von *Nicotiana tabacum* L. mit experimentell verringertem Chlorophyllgehalt. Havel-Spree-Colloquium Potsdam, 16. November 1996, Vortrag

Matorin, D. N., **Pörs, Y.**, Hoffmann P. (1997) Characteristics of chlorophyll fluorescence in transgenic plants (*Nicotiana tabacum* L.) with lesion in chlorophyll synthesis due to transformation with glutamat-1-semialdehyde aminotransferase antisense gene. Internat. Symposium “Problems and Trends of Photobiochemistry”, Moskva May 1997, Book of Abstracts, p. 45

Matorin, D. N., **Pörs, Y.**, Hoffmann, P. (1999) Changes in light sensitivity of photosynthesis in tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants transformed with the antisense gene of glutamate-1-semialdehyde aminotransferase (in russ.). Russian J. of Plant Physiol. **46** (4), 467 – 473

Pörs, Y., Hansen, U., Hoffmann, P. Compensation of a reduced light absorption of *Nicotiana tabacum* L. source leaves at the levels of photosynthetic primary processes, CO₂ uptake and growth, in Vorb.